

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



TESIS DOCTORAL

Efecto de la lidocaína en la modulación del daño pulmonar en un modelo experimental de cirugía de resección pulmonar en cerdos

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Gabriel Cusati

Directores

Ignacio Garutti
Elena Vara
Carlos Simon

Madrid, 2015



***EFFECTO DE LA LIDOCAÍNA EN LA MODULACIÓN DEL
DAÑO PULMONAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE
CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR EN CERDOS***

TESIS

Presentada en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid para obtener el Grado
de Doctor en Medicina

por

GABRIEL CUSATI

MADRID, FEBRERO 2015



***EFECTO DE LA LIDOCAÍNA EN LA MODULACIÓN DEL
DAÑO PULMONAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE
CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR EN CERDOS***

TESIS

Presentada en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid para obtener el Grado
de Doctor en Medicina

por

GABRIEL CUSATI

DIRECTORES: Dr. Ignacio Garutti

Dra. Elena Vara

Dr. Carlos Simon

MADRID, FEBRERO 2015



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	GABRIEL CUSATI
Título de la Tesis	EFFECTO DE LA LIDOCAÍNA EN LA MODULACIÓN DEL DAÑO PULMONAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR EN CERDOS
Facultad o Centro	Medicina

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Ignacio Garutti/Elena Vara/Carlos Simón
Centro al que pertenece en la actualidad	Seervicio de Anestesiología, HGUGM/D Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina//Servicio de Cirugía Torácica, HGUGM
D.N.I./Pasaporte	50.303.938-V/33202901D/51374328 X
e-mail	ngaruttimartinez@yahoo.es/evaraami@ucm.es/carlosmsa@telefonica.net

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

Ignacio Garutti, FEA del Servicio de Anestesiología del HGUGM, Elena Vara, Catedrática de Bioquímica y Biología Molecular y Carlos M Simón Adiego, Profesor Asociado y FEA del D de Cirugía (Servicio de Cirugía Torácica del HGUGM), Facultad de Medicina de la UCM

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado “EFECTO DE LA LIDOCAÍNA EN LA MODULACIÓN DEL DAÑO PULMONAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE CIRUGÍA DE RESECCIÓN PULMONAR EN CERDOS” del que es autor D. Gabriel Cusati, ha sido realizado bajo nuestra dirección.

Gabriel Cusati ha participado activamente con nosotros en los proyectos de investigación PI10/01900 y PI10/00986 subvencionados por el Ministerio de Ciencia e Innovación, enfocados al estudio de los mecanismos moleculares implicados en el daño pulmonar secundario a la cirugía de resección pulmonar y su posible modulación por lidocaína. La participación en estos proyectos le ha permitido realizar una serie de actividades experimentales, conducentes a la obtención del Grado Académico de Doctor. En este período ha obtenido una serie de logros y resultados que se han materializado hasta la fecha en 2 publicaciones en revistas de alto impacto en el área de la anestesiología. También ha participado en diversos congresos científicos tanto nacionales como internacionales, donde se han presentado los resultados de su trabajo. Por todo ello, consideramos que el trabajo realizado reúne las características necesarias de originalidad, planteamiento adecuado de la hipótesis de trabajo, desarrollo metodológico adecuado y discusión crítica de los resultados para ser defendida como tesis doctoral.

Madrid, a 28 de Enero de 2015

Fdo.: I. Garutti

E. Vara

C. Simón

Este impreso deberá entregarse a la Comisión Académica responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral, con el fin de que se incluya junto con la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la aprobación, si procede, y designación del Tribunal que ha de juzgar la Tesis Doctoral en el acto de defensa.

SIGLAS UTILIZADAS EN ORDEN DE APARICIÓN

VALI: Ventilator associated lung injury (daño pulmonar asociado a ventilación mecánica)

FAK: Focal adhesion kinase (quinasa de adhesión focal)

MAPK: Mitogen-activated protein kinase (proteína quinasa activada por mitógenos)

IL-8: Interleuquina 8

IL-6: Interleuquina 6

SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo

PEEP: Positive end expiratory pressure (presión positiva al final de la espiración)

LBA: Lavado broncoalveolar

VUP: Ventilación unipulmonar

ZEPP: Zero end expiratory pressure (peep de cero)

VPH: Vasoconstricción pulmonar hipóxica

ROS: Reactive oxygen species (especies reactivas de O₂)

RNS: Reactive nitrogen species (especies reactivas de nitrógeno)

NF- κ B: Nuclear factor κ B (factor nuclear κ B)

ALI: Acute lung injury (daño pulmonar agudo)

PaO₂/FiO₂: Presión arterial de O₂ / Fracción inspirada de O₂

CPAP: Continuous positive airway pressure (presión positiva continua en la vía aérea)

PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1 (inhibidor del activador del plasminógeno)

VATS: Video assisted thoracic surgery (toracoscopia)

PMN: Polimorfonuclear

I-CAM: Intercellular - cell adhesion molecule (molécula de adhesión intercelular)

V-CAM: Vascular - cell adhesion molecule (molécula de adhesión vascular)

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)

NK: Natural killer (asesina natural)

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha (factor de necrosis tumoral alfa)

IL-1 β : Interleuquina 1 β

IFN- γ : Interferón gamma

IL-2: Interleuquina 2

CXC: Quimioquina con residuos de cisteína separados por un aminoácido

CXCR1 y CXCR2: receptores de quimioquinas tipo CXC

MCP-1: Monocyte chemotactic protein 1 (proteína quimiotáctica de monocitos)

MIP-1 α : Macrophage inflammatory protein 1 α (péptido 1 α inflamatorio de macrófagos)

ENA-78: Epithelial neutrophil activator (activador epitelial de neutrófilos)

IL-1RI: Receptor de interleuquina 1, unido a membrana (tipo 1)

IL-1RII: Receptor de interleuquina 1, unido a membrana (tipo 2)

sIL-1RI: Soluble IL-1 receptor (receptores de IL-1 fracción soluble tipo 1)

sIL-1RII: Soluble IL-1 receptor (receptores de IL-1 fracción soluble tipo 2)

IL-1Ra: IL-1 receptor antagonist (antagonista del receptor de IL-1)

VILI: Ventilator induced lung injury (daño pulmonar inducido por ventilación mecánica)

TNF- α RI: TNF- α receptor (receptor de TNF- α tipo 1)

TNF- α RII: TNF- α receptor (receptor de TNF- α tipo 2)

MHC: Major histocompatibility complex (complejo mayor de histocompatibilidad)

JNK: c-Jun N-terminal kinases (quinasa c-Jun N-terminal)

Fas/FasL: Proteína Fas y su ligando

sTNF- α R: Soluble TNF- α receptor (fracción soluble del receptor de TNF- α)

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

IL-6R: IL-6 Receptor (receptor de IL-6)

gp130: Glucoproteína 130

JAK-STAT: janus kinase – signal transducer and activator of transcription

sIL-6R: Soluble IL-6 receptor (fracción soluble del receptor de IL-6)

IL-10: Interleuquina 10

IL-10R: Receptor de IL-10

CC: Quimioquinas con residuos de cisteína adyacentes

CCR2 y CCR4: CC receptores de quimioquinas CC

TKL: Tyrosine kinase like (proteína parecida a la tirosin quinasa)

ERK: Extracellular signal regulated kinases (quinasa reguladora de señales extracelulares)

I κ B: Inhibitory κ B (proteína inhibitoria de NF- κ B)

IKK: Inhibitor κ B kinase (quinasas de I κ B)

NIK: NF- κ B inducing kinase (quinasas inductoras de NF- κ B)

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ICE: Interleukin-1 converting enzyme (enzima convertidora de IL-1)

FADD: Fas associated protein with death domain (dominio de muerte asociado a Fas)

TRADD: TNF receptor associated death domain (dominio de muerte asociado a TNF)

Apaf-1: Apoptotic protease activating factor 1 (factor activador de proteasa apoptótica)

MAC: Mitochondrial apoptosis-induced channel (canales mitocondriales inductores de apoptosis)

Bcl2: B cell lymphoma 2 (linfoma de células B) oncogen

BAD: Bcl2 associated death promoter (promotor de muerte asociado a Bcl2)

BAX: Bcl2 associated X protein (proteína X asociada a Bcl2)

XIAP: X-linked inhibitor of apoptosis protein (proteína inhibidora de la apoptosis ligada a X)

MMP: Matrix metalloproteinases (metaloproteinasas de la matriz)

TIMP: Tissue inhibitor of metalloproteinases (inhibidores tisulares de metaloproteinasas)

NO: Nitric oxide (óxido nítrico)

NOS: Nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa)

nNOS: Neuronal nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa neuronal)

iNOS: Inducible nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa inducible)

eNOS: Endothelial nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa endotelial)

cGMP: Cyclic guanosine monophosphate (guanosin monofosfato cíclico)

ELWI: Extravascular lung water index (índice de agua extravascular pulmonar)

LPS: Lipopolisacáridos

IV: Intravenosa

LTB4: Leucotrieno B4

PCIV: Perfusión continua intravenosa

SIGLAS UTILIZADAS EN ORDEN ALFABÉTICO

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ALI: Acute lung injury (daño pulmonar agudo)

Apaf-1: Apoptotic protease activating factor 1 (factor activador de proteasa apoptótica)

BAD: Bcl2 associated death promoter (promotor de muerte asociado a Bcl2)

BAX: Bcl2 associated X protein (proteína X asociada a Bcl2)

Bcl2: B cell lymphoma 2 (linfoma de células B) oncogen

CC: Quimioquinas con residuos de cisteína adyacentes

CCR2 y CCR4: CC receptores de quimioquinas CC

cGMP: Cyclic guanosine monophosphate (guanosin monofosfato cíclico)

CPAP: Continuous positive airway pressure (presión positiva continua en la vía aérea)

CXC: Quimioquina con residuos de cisteína separados por un aminoácido

CXCR1 y CXCR2: receptores de quimioquinas tipo CXC

ELWI: Extravascular lung water index (índice de agua extravascular pulmonar)

ENA-78: Epithelial neutrophil activator (activador epitelial de neutrófilos)

eNOS: Endotelial nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa endotelial)

ERK: Extracellular signal regulated kinases (quinasa reguladora de señales extracelulares)

FADD: Fas associated protein with death domain (dominio de muerte asociado a Fas)

FAK: Focal adhesion kinase (quinasa de adhesión focal)

Fas/FasL: Proteína Fas y su ligando

gp130: Glucoproteína 130

I-CAM: Intercellular - cell adhesion molecule (molécula de adhesión intercelular)

ICE: Interleukin-1 converting enzyme (enzima convertidora de IL-1)

IFN- γ : Interferón gamma

IKK: Inhibitor $\kappa\beta$ kinase (quinasas de $I\kappa\beta$)

IL-10: Interleuquina 10

IL-10R: Receptor de IL-10

IL-1Ra: IL-1 receptor antagonist (antagonista del receptor de IL-1)

IL-1RI: Receptor de interleuquina 1, unido a membrana (tipo 1)

IL-1RII: Receptor de interleuquina 1, unido a membrana (tipo 2)

IL-1 β : Interleuquina 1 β

IL-2: Interleuquina 2

IL-6: Interleuquina 6

IL-6R: IL-6 Receptor (receptor de IL-6)

IL-8: Interleuquina 8

iNOS: Inducible nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa inducible)

IV: Intravenosa

$I\kappa\beta$: Inhibitory $\kappa\beta$ (proteína inhibitoria de NF- $\kappa\beta$)

JAK-STAT: janus kinase – signal transducer and activator of transcription

JNK: c-Jun N-terminal kinases (quinasa c-Jun N-terminal)

LBA: Lavado broncoalveolar

LPS: Lipopolisacáridos

LTB₄: Leucotrieno B₄

MAC: Mitochondrial apoptosis-induced channel (canales mitocondriales inductores de apoptosis)

MAPK: Mitogen-activated protein kinase (proteína quinasa activada por mitógenos)

MCP-1: Monocyte chemotactic protein 1 (proteína quimiotáctica de monocitos)

MHC: Major histocompatibility complex (complejo mayor de histocompatibilidad)

MIP-1 α : Macrophage inflammatory protein 1 α (péptido 1 α inflamatorio de macrófagos)

MMP: Matrix metalloproteinases (metaloproteinasas de la matriz)

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)

NF- $\kappa\beta$: Nuclear factor $\kappa\beta$ (factor nuclear $\kappa\beta$)

NIK: NF- $\kappa\beta$ inducing kinase (quinasas inductoras de NF- $\kappa\beta$)

NK: Natural killer (asesina natural)

nNOS: Neuronal nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa neuronal)

NO: Nitric oxide (óxido nítrico)

NOS: Nitric oxide synthase (óxido nítrico sintetasa)

PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1 (inhibidor del activador del plasminógeno)

PaO₂/FiO₂: Presión arterial de O₂ / Fracción inspirada de O₂

PCIV: Perfusión continua intravenosa

PEEP: Positive end expiratory pressure (presión positiva al final de la espiración)

PMN: Polimorfonuclear

RNS: Reactive nitrogen species (especies reactivas de nitrógeno)

ROS: Reactive oxygen species (especies reactivas de O₂)

SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo

sIL-1RI: Soluble IL-1 receptor (receptores de IL-1 fracción soluble tipo 1)

sIL-1RII: Soluble IL-1 receptor (receptores de IL-1 fracción soluble tipo 2)

sIL-6R: Soluble IL-6 receptor (fracción soluble del receptor de IL-6)

sTNF- α R: Soluble TNF- α receptor (fracción soluble del receptor de TNF- α)

TIMP: Tissue inhibitor of metalloproteinases (inhibidores tisulares de metaloproteinasas)

TKL: Tyrosine kinase like (proteína parecida a la tirosin quinasa)

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha (factor de necrosis tumoral alfa)

TNF- α RI: TNF- α receptor (receptor de TNF- α tipo 1)

TNF- α RII: TNF- α receptor (receptor de TNF- α tipo 2)

TRADD: TNF receptor associated death domain (dominio de muerte asociado a TNF)

V-CAM: Vascular - cell adhesion molecule (molécula de adhesión vascular)

VALI: Ventilator associated lung injury (daño pulmonar asociado a ventilación mecánica)

VATS: Video assisted thoracic surgery (toracoscopia)

VILI: Ventilator induced lung injury (daño pulmonar inducido por ventilación mecánica)

VPH: Vasoconstricción pulmonar hipóxica

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

VUP: Ventilación unipulmonar

XIAP: X-linked inhibitor of apoptosis protein (proteína inhibidora de la apoptosis ligada a X)

ZEEP: Zero end expiratory pressure (peep de cero)

RESUMEN

ANTECEDENTES

Durante la cirugía de resección pulmonar ocurre inevitablemente una alteración de la respuesta inflamatoria. Esta alteración se acompaña de una elevación en la expresión de citoquinas que modulan la inmunidad celular, la inmunidad humoral y la inflamación. Las citoquinas logran estos efectos al actuar sobre la comunicación celular. Las mismas, son capaces de regular funciones como la quimiotaxis, crecimiento y diferenciación celular, también modifican la síntesis de inmunoglobulinas y receptores de membrana.

La alteración de la respuesta inflamatoria se asocia a una mayor incidencia de infecciones y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica que empeoran el pronóstico postoperatorio.

Tras la cirugía de resección pulmonar, las complicaciones pulmonares son la causa más frecuente de morbilidad. Dentro de estas, la complicación más dramática por su elevada mortalidad es el síndrome de distrés respiratorio del adulto.

Varios mecanismos fisiopatológicos han sido involucrados para explicar la aparición de este cuadro clínico. Entre ellos la inflamación, el síndrome de isquemia reperusión, el daño de la barrera alveolocapilar, la apoptosis y la alteración del óxido nítrico juegan un papel fundamental en su etiología.

La ventilación mecánica y más específicamente la ventilación unipulmonar indispensable para la cirugía torácica, es probablemente el factor desencadenante más importante asociado a la generación de esta complicación.

Los anestésicos locales han sido utilizados clásicamente en medicina como antiarrítmicos y bloqueantes de la conducción nerviosa por su efecto sobre los canales

de sodio. Sin embargo, en las últimas décadas su uso clínico se ha venido ampliando gracias a su efecto antiinflamatorio y ha sido utilizado en variedad de patologías para atenuar la respuesta inflamatoria.

Se han descrito efectos inhibitorios de los anestésicos locales sobre la producción de citoquinas, de especies reactivas de oxígeno, sobre la migración y activación de los polimorfonucleares y sobre la apoptosis, que explican en conjunto su efecto sobre el sistema inmunológico.

Entre los anestésicos locales la lidocaína intravenosa ha sido ampliamente utilizada en la profilaxis y tratamiento de arritmias ventriculares, demostrando un gran margen de seguridad, y más recientemente ser eficaz en la modulación de la respuesta inflamatoria en diversos tipos de cirugías.

OBJETIVO

El objetivo principal de nuestro estudio fue evaluar el papel de la lidocaína frente al daño pulmonar asociado a la cirugía de resección pulmonar a través de la medición de diversas citoquinas, y marcadores de la apoptosis y de la formación de edema pulmonar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El modelo experimental utilizado fue la realización de una lobectomía caudal izquierda a través de una toracotomía.

Los animales fueron divididos en tres grupos: lidocaína, control y SHAM, asignados aleatoriamente. El grupo de lidocaína recibió un bolo inicial de 1,5 mg/Kg de anestésico local después de la inducción anestésica seguido de una perfusión continua de 1,5 mg/Kg/h hasta la finalización de la cirugía. El grupo control recibió un bolo inicial seguido de una perfusión continua de suero fisiológico. La aleatorización de los

grupos son desconocidos por el equipo quirúrgico y anestésico. Al grupo SHAM se le realizó una toracotomía izquierda sin ventilación unipulmonar ni lobectomía caudal.

Se monitorizó la presión pico, media y complianza de forma continua durante todo el experimento. También se realizó la medición de presión arterial continua además del gasto cardíaco y variables derivadas por termodilución transpulmonar.

Se realizaron lavados broncoalveolares guiados con fibrobroncoscopio en cuatro momentos durante el experimento: basal, tras 120 minutos de ventilación unipulmonar (LBA 120' OLV), 60 minutos después de reiniciar la ventilación bipulmonar (LBA 60' TLV) y 24 horas después de la lobectomía (LBA 24h).

Se tomaron muestras sanguíneas para las determinaciones bioquímicas de la vena femoral en los siguientes momentos: basal, tras 30 minutos de ventilación unipulmonar (30' OLV), a los 120 minutos de ventilación unipulmonar (120' OLV), 60 minutos después de reiniciar la ventilación bipulmonar (60' TLV) y 24 horas después de la lobectomía (24h).

Se tomaron biopsias de tejido pulmonar inmediatamente después de realizar la toracotomía. El primer día se tomó biopsia del lóbulo caudal izquierdo. Al día siguiente se realizan biopsias del lóbulo cefálico izquierdo (colapsado durante la ventilación unipulmonar) y del lóbulo mediastínico (no colapsado durante la ventilación unipulmonar).

Todos los datos se expresan como media \pm la desviación estándar de la media. Las variaciones entre los grupos se calcularon usando el test no paramétrico Kruskal-Wallis y corregido con el test de Tukey post hoc para comparar 2 grupos. Se aplicó la prueba de Dunn con un nivel de significación del 5% y los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

RESULTADOS

Los resultados de nuestro estudio demuestran que:

1) Durante la cirugía de resección pulmonar aumenta la producción pulmonar y liberación sistémica de TNF- α , IL-2 e IL-10 medidos en muestras de lavados bronco-alveolares y plasma.

2) Durante la cirugía de resección pulmonar aumenta la producción pulmonar y liberación sistémica de MMP-2 y MMP-9 medidos en muestras de lavados bronco-alveolares y plasma.

3) Durante la cirugía de resección pulmonar aumentan la expresión de las proteínas de la apoptosis BAD, BAX, y la actividad de caspasa 3 y caspasa 9, medidos en muestras de tejido pulmonar.

4) Durante la cirugía de resección pulmonar disminuyen los niveles de óxido nítrico en plasma y lavados bronco-alveolares mientras que aumentan la expresión de iNOS en muestras de tejido pulmonar.

5) Durante la cirugía de resección pulmonar la administración intravenosa de lidocaína es capaz de atenuar la formación pulmonar y liberación sistémica de: TNF- α , IL-2 e IL-10.

6) Durante la cirugía de resección pulmonar la administración intravenosa de lidocaína es capaz de atenuar la formación pulmonar y liberación sistémica de: MMP-2 y MMP-9.

7) Durante la cirugía de resección pulmonar la administración intravenosa de lidocaína es capaz de disminuir la expresión de las proteínas BAD, BAX, la actividad

de caspasa 3 y caspasa 9 y de aumentar la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 en muestras de tejido pulmonar.

8) Durante la cirugía de resección pulmonar la administración intravenosa de lidocaína es capaz de aumentar la expresión eNOS en el tejido pulmonar y mantener los niveles de óxido nítrico en plasma y lavados bronco-alveolares similares a los basales.

CONCLUSIONES

En conclusión nuestros resultados sugieren que el uso de lidocaína intravenosa puede atenuar el daño pulmonar asociado a la cirugía de resección pulmonar a través de un mecanismo que involucre al menos una reducción en la expresión de citoquinas proinflamatorias, un mecanismo antiapoptótico de las células pulmonares y la regulación de la síntesis de óxido nítrico.

SUMMARY

BACKGROUND

During lung resection surgery an alteration of normal inflammatory response occurs. This condition is accompanied by an increase in the expression of cytokines that modulate cellular and humoral immunity and inflammation. Cytokines achieve these effects regulating different cell functions such as chemotaxis, growth and differentiation, they also modified immunoglobulin synthesis and membrane receptors all this acting on cell communication.

An alteration of inflammatory response is associated with a higher incidence of infections and systemic inflammatory response syndrome that worsen postoperative prognosis.

After lung resection surgery, pulmonary complications are the most frequent cause of morbidity. Among these, the most dramatic complication for its high mortality rate is the acute respiratory distress syndrome.

Several pathophysiological mechanisms have been described to explain the appearance of this clinical entity. Including inflammation, ischemia reperfusion syndrome, alveolar-capillary barrier damage, apoptosis and an altered nitric oxide pathway play a critical role in its etiology.

One lung ventilation, is essential for lung resection surgery, and probably is the most important triggering factor associated with the generation of this complication.

Local anesthetics have been traditionally used in medicine as a blocking of nerve conduction or as an antiarrhythmic drug by its effect on sodium channels. However, in recent decades, its clinical use has been enlarged due to its anti-inflammatory effect and has been used in variety of conditions to mitigate the inflammatory response.

Various mechanisms of action have been described to explain the anti-inflammatory effects of local anesthetics. They can act on cytokine production, reactive oxygen species formation, leucocyte migration and activation and finally on apoptosis too, which together could explain its effect on the immune system.

Among local anesthetics, intravenous lidocaine has been widely used on prophylaxis and treatment of ventricular arrhythmias, demonstrating a large margin of safety. More recently some authors proved to be effective modulating the inflammatory response in different types of surgeries.

OBJECTIVE

The main objective of our study was to evaluate lidocaine's role against lung damage associated with lung resection through the measurement of various cytokines, apoptosis markers and the development of pulmonary edema.

METHODS

We conducted a left caudal lobectomy through a thoracotomy in our model.

Animals were divided into three groups: lidocaine, control and SHAM group randomly assigned. Lidocaine group animals received an initial bolus of 1.5 mg/Kg of local anesthetic after anesthesia induction followed by an infusion of 1.5 mg/Kg/h until the end of surgery. Control group received an initial bolus followed by a saline infusion. Randomization groups are unknown to the surgical and anesthesia team. SHAM group underwent a left thoracotomy without one lung ventilation or lobectomy.

Lung compliance, peak and plateau pressure was monitored throughout the experiment. Invasive blood pressure was measured in addition to cardiac output and parameters derived of transpulmonary thermodilution technique.

Bronchoalveolar lavage guided by fiberoptic bronchoscopy was performed four times during the experiment: baseline, 120 minutes after one-lung ventilation was

started (LBA 120 ' OLV), 60 minutes after two-lung ventilation restart (LBA 60' TLV) and 24 hours after surgery (LBA 24h).

Femoral vein blood samples was performed for biochemical determinations five times during the experiment: baseline, 30 minutes after one-lung ventilation was started (30 ' OLV), 120 minutes after one-lung ventilation was started (120' OLV), 60 minutes after two-lung ventilation restart (60 ' TLV) and 24 hours after lobectomy (24h).

Lung tissue biopsies were taken immediately after performing thoracotomy. First day one biopsy left caudal lobe. The next day two biopsies were taken. One left cephalic lobe (collapsed during one-lung ventilation) and one mediastinal lobe (not collapsed during one-lung ventilation) were performed.

All data are expressed as mean \pm standard deviation of the mean. Variations between groups were calculated using the nonparametric Kruskal- Wallis test and corrected with post hoc Tukey test to compare two groups. Dunn's test was applied with a significance level of 5% and p values < 0.05 were considered significant.

RESULTS

The results of our study show that:

- 1) Lung resection surgery increases local production and systemic release of TNF - α , IL -2 and IL -10, measured in plasma and bronchoalveolar lavage.
- 2) Lung resection surgery increases local production and systemic release of MMP-2 and MMP-9, measured in plasma and bronchoalveolar lavage.
- 3) Lung resection surgery increases expression of the apoptotic pathway proteins BAD , BAX , caspase 3 and caspase 9 measured in lung tissue biopsies.
- 4) Lung resection surgery decreases nitric oxide levels measured in plasma and bronchoalveolar lavage and increase iNOS lung expression in lung tissue biopsies.

- 5) During lung resection surgery intravenous lidocaine can attenuate formation and systemic release of: TNF - α , IL -2 and IL -10.
- 6) During lung resection surgery intravenous lidocaine can attenuate the formation and systemic release of: MMP-2 andMMP-9.
- 7) During lung resection surgery intravenous lidocaine is able to decrease BAD and BAX proteins expression, caspase 3 and caspase 9 activity and may increase expression of the antiapoptotic protein Bcl -2.
- 8) During lung resection surgery intravenous lidocaine may increase local and systemic nitric oxide levels and eNOS lung expression.

CONCLUSION

In conclusion, our results suggest that intravenous lidocaine use may attenuate lung damage associated with lung resection surgery through a mechanism that involves at least a reduction in the expression of proinflammatory cytokines, an antiapoptotic mechanism and lung cells regulation of nitric oxide synthesis .

ÍNDICE

RESUMEN	19
SUMMARY	25
1 INTRODUCCIÓN	33
1.1 DAÑO PULMONAR PERIOPERATORIO EN CIRUGÍA TORÁCICA	35
1.1.1 DAÑO PULMONAR ASOCIADO A VENTILACIÓN MECÁNICA.....	35
1.1.2 DAÑO PULMONAR ASOCIADO A VENTILACIÓN UNIPULMONAR.....	40
1.1.3 DAÑO PULMONAR POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	44
1.1.4 ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN PULMONAR POSTOPERATORIA EN CIRUGÍA DE TÓRAX.....	46
1.2 MARCADORES BIOLOGICOS DEL DAÑO PULMONAR PERIOPERATORIO	52
1.2.1 RESPUESTA CELULAR EN LA INFLAMACIÓN.....	52
1.2.2 CITOQUINAS EN LA INFLAMACIÓN	56
1.2.3 LA COMUNICACIÓN CELULAR.....	66
1.2.4 APOPTOSIS	71
1.2.5 METALOPROTEINASAS (MMP matrix metalloproteinases).....	77
1.2.6 ÓXIDO NÍTRICO (NO).....	79
1.2.7 EDEMA PULMONAR	81
1.3 ANESTÉSICOS LOCALES (AL)	83
1.3.1 EFECTOS DE LOS AL DE SOBRE LA RESPUESTA CELULAR EN LA INFLAMACIÓN	84
1.3.2 EFECTO DE LOS AL SOBRE EL LA SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE CITOQUINAS.....	85
1.3.3 EFECTOS DE LOS AL SOBRE LA APOPTOSIS	87
1.3.4 EFECTO DE LOS AL SOBRE LA PRODUCCIÓN DE OXIDO NÍTRICO (NO)	88
1.3.5 USO PLEIOTRÓPICO DE LOS ANESTÉSICOS LOCALES.....	89
1.3.6 ANESTÉSICOS LOCALES Y SDRA.....	92
1.3.7 COMPLICACIONES DEL USO INTRAVENOSO DE ANESTÉSICOS LOCALES	97
2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	99
2.1 HIPÓTESIS.....	101
2.2 OBJETIVOS	101
2.2.1 OBJETIVO GENERAL.....	101
2.2.2 OBJETIVOS CONCRETOS.....	102

3 MATERIALES Y MÉTODOS	103
3.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:	105
3.2 MATERIAL FUNGIBLE Y SISTEMA DE MONITORIZACIÓN EMPLEADO.....	105
3.3 QUIRÓFANO E INSTALACIONES:	105
3.4 MODELO ANIMAL Y GRUPOS DE ESTUDIO	106
3.5 PROTOCOLO ANESTÉSICO	107
3.6 PROTOCOLO QUIRÚRGICO	108
3.7 MEDICIONES REALIZADAS.....	109
3.7.1 PARÁMETROS HEMODINÁMICOS Y GASOMETRÍAS ARTERIALES.....	109
3.7.2 DETERMINACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS.....	110
3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	117
4 RESULTADOS	119
4.1 PARÁMETROS CARDIO-RESPIRATORIOS	121
4.2 DETERMINACIONES EN PLASMA	123
4.2.1 BIOMARCADORES OBTENIDOS EN SANGRE.....	123
4.2.2 DETERMINACIONES EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES	129
4.2.3 DETERMINACIONES EN TEJIDO PUMONAR	136
4.2.4 ÓXIDO NÍTRICO (NO).....	147
4.2.5 EDEMA PULMONAR	152
5 DISCUSIÓN	153
5.1.1 PARÁMETROS RESPIRATORIOS.....	156
5.1.2 PARÁMETROS CARDIOVASCULARES.....	158
5.2.1 BIOMARCADORES SISTÉMICOS.....	159
5.2.2 BIOMARCADORES EN LBA	164
5.3 BIOPSIAS PULMONARES	168
5.4 APOPTOSIS	172
5.5 METABOLISMO DEL ÓXIDO NÍTRICO	176
5.6 EDEMA PULMONAR.....	180
6 CONCLUSIONES	183
7 BIBLIOGRAFÍA	187

1INTRODUCCIÓN

1.1 DAÑO PULMONAR PERIOPERATORIO EN CIRUGÍA TORÁCICA

Durante las cirugías con anestesia general y de forma más importante en cirugía torácica ocurre en mayor o menor grado un daño pulmonar el cual es multifactorial, pero sin duda fuertemente asociado al necesario uso de ventilación mecánica. El grado de este daño pulmonar no es fácilmente evaluable en etapas tempranas (antes de que se presente un deterioro clínico en el paciente) pero queda claro que ocurre un mecanismo fisiopatológico progresivo que lleva finalmente a la expresión del cuadro. Diversos marcadores biológicos han sido utilizados para detectar precozmente la presencia de daño pulmonar con la intención de reducir en la medida de lo posible los agentes agresores y finalmente el grado de daño pulmonar que inevitablemente causamos, sin tener hasta el momento uno de uso óptimo o clínicamente relevante.

1.1.1 DAÑO PULMONAR ASOCIADO A VENTILACIÓN MECÁNICA

La ventilación mecánica es necesaria durante la anestesia general al producirse una parálisis de los músculos voluntarios de la respiración, pero también es útil en otras situaciones clínicas siendo por ejemplo indispensable para sobrellevar la insuficiencia respiratoria en los casos de síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA).

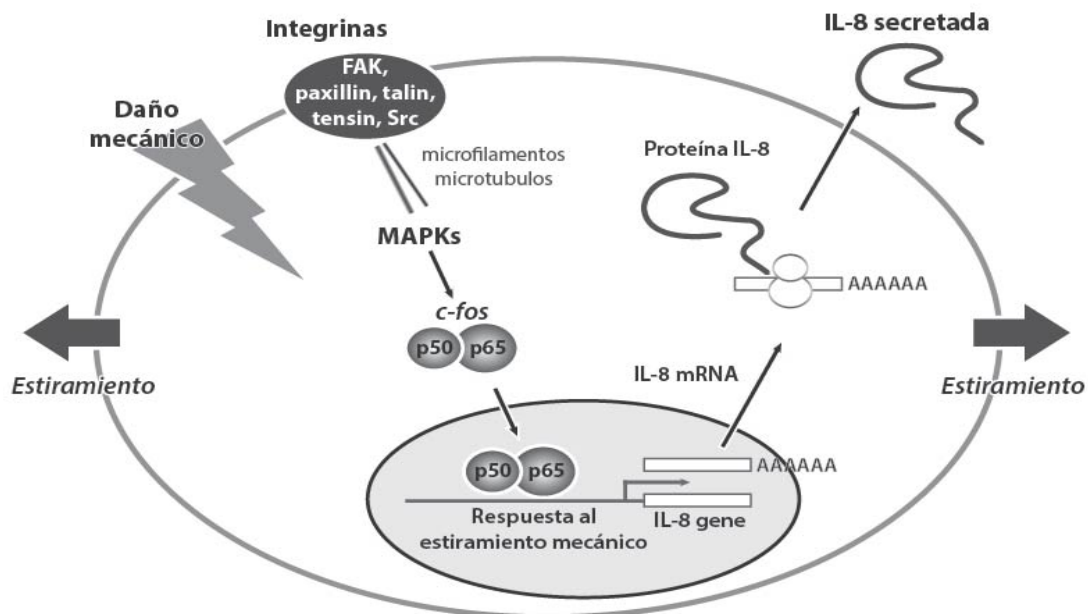
Los células del sistema respiratorio están sometidas continuamente a ciclos de estiramiento y retracción durante las fases de inspiración y espiración, sin embargo, con la ventilación mecánica puede ocurrir una sobredistensión alveolar capaz de causar un daño pulmonar, comúnmente denominado VALI (por sus siglas en inglés “ventilator associated lung injury”). Este ocurre mediante un mecanismo complejo y no del todo conocido a nivel molecular que traduce el daño físico causado por la deformación

celular en señales bioquímicas a través de proteínas de membrana y canales mecano-sensibles que involucran tanto a células endoteliales como epiteliales pulmonares (1–3).

La deformación celular es sensada por proteínas de membrana generalmente integrinas (quinasas de adhesión focal FAK, quinasas *Src*, paxilina, talina, etc.) que se asocian a microfilamentos y microtúbulos intracelulares (4). Esta deformación produce un cambio conformacional en dichas proteínas que activa la vía de protein quinasa A y fosfatidilinositol (5–7). Posteriormente la señal es traducida al interior celular a través de MAPK (mitogen-activated protein kinase) y posiblemente del factor nuclear $\kappa\beta$ (NF $\kappa\beta$) que a su vez activa la transcripción genética de interleuquinas, fundamentalmente de IL-8 (8–10), aunque también está implicada la IL-6 (11) (fig. 1).

Estas señales intracelulares, desencadenadas por deformación celular son las mismas que se inician por la acción de citoquinas proinflamatorias o por productos bacterianos que aumentan la transcripción genética de los mediadores inflamatorios.

Figura 1. Señales bioquímicas desencadenadas por la deformación celular



Clásicamente los pacientes eran ventilados con volúmenes corrientes elevados (10-15 ml/Kg de peso ideal del paciente) para intentar evitar las atelectasias secundarias a la intubación y la anestesia general, y de esta manera el shunt intra-pulmonar (12). Sin embargo actualmente se conoce el efecto deletéreo que tiene la sobredistensión alveolar en la aparición de daño pulmonar (13). Así se ha visto que el uso de volúmenes corriente más cercanos a los fisiológicos se relacionan con un mejor pronóstico pulmonar tanto en los pacientes con pulmones sanos (14,15) como en los que ya han desarrollado algún grado de daño pulmonar secundario a otras patologías (16).

La ventilación mecánica menos agresiva con el pulmón se ha denominado “ventilación protectora” y se refiere fundamentalmente a la disminución del volumen corriente (6-8ml/Kg de peso ideal), que disminuye las presiones en la vía aérea, acompañada de presión positiva al final de la espiración (PEEP), que evita el colapso alveolar (17).

Múltiples estudios en diferentes animales *in vivo* y *ex vivo* han demostrado que la sobredistensión es capaz de causar daño pulmonar y de provocar la liberación tanto local como sistémica de mediadores inflamatorios (18–22). Otros autores han comparado el efecto de una ventilación con volúmenes corrientes bajos versus una ventilación convencional y han observado una menor incidencia de daño pulmonar y de marcadores de la inflamación en la primera (14,19,23).

Desde el punto de vista clínico, la evidencia más contundente la encontramos en pacientes con SDRA. En este ámbito la revisión de seis estudios clínicos prospectivos aleatorizados ha demostrado una reducción de la mortalidad a 28 días con una estrategia de “ventilación de protección pulmonar” frente a una “ventilación convencional” (17), el mismo fenómeno se observó al evaluar la mortalidad de estos pacientes a los 2 años (24) demostrándose así la importancia del VALI en estos pacientes.

Por otro lado, tanto en estudio retrospectivos, como prospectivos aleatorizados de pacientes críticos médicos y quirúrgicos, se observó que los pacientes en ventilación mecánica durante más de 48 horas y que recibieron una ventilación convencional frente a los que recibieron volúmenes corriente más bajos tienen un incremento en el riesgo de desarrollar SDRA (25–27) y un aumento en marcadores inflamatorios (27).

A su vez, en pacientes postquirúrgicos en cuidados intensivos existe una tendencia a disminuir el número de neumonías, los días de ventilación mecánica y días de estancia en la unidad, en los que reciben un volumen corriente de 6 ml/Kg frente a 12 ml/Kg (28), que se acompaña de una disminución en las citoquinas proinflamatorias en los lavados broncoalveolares (LBA) (29).

En estudios prospectivos aleatorizados de pacientes sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea se observa una disminución en las citoquinas proinflamatorias tanto en plasma como en LBA en pacientes ventilados con volumen corriente bajo frente a los que recibieron una ventilación convencional (30–32).

También en cirugía cardíaca, otros autores observan menor incidencia de pacientes intubados a las 6 horas, menor número de reintubaciones (33), mayor capacidad residual funcional y menos episodios de hipoxemia después de la extubación en los pacientes que recibieron una ventilación de protección pulmonar (34). Mientras que en un estudio prospectivo observacional de pacientes similares, se observó un mayor riesgo de fallo multiorgánico y de estancia en cuidados críticos en los pacientes en los que se ventiló con más de 10 ml/Kg de volumen corriente (35).

Así mismo, tanto en pacientes obesos como en mujeres, que requieren intubación de más de 48 horas y en aquellos sometidos a cirugía cardíaca; se ha observado un riesgo mayor a desarrollar SDRA. El cual se deriva de la tendencia a

utilizar volúmenes corrientes más elevados, al no ajustarlo al peso corporal ideal (25,35).

En pacientes en muerte cerebral potencialmente donantes de órganos, una ventilación de protección pulmonar aumenta el número de pulmones que son elegidos y trasplantados sin alterar la mortalidad a seis meses del receptor (36).

Cuando se trata de cirugía abdominal en pacientes sin patología pulmonar previa no existe evidencia definitiva que indique que una estrategia de ventilación de protección pulmonar resulte en una disminución del riesgo de SDRA o disminución de mediadores inflamatorios en sangre (37,38). Sin embargo, algunos autores observan durante cirugía abdominal prolongada una elevación en LBA de citoquinas proinflamatorias y marcadores procoagulantes en los pacientes con ventilación convencional frente a una ventilación protectora (14,39). Además otros autores observan un alta hospitalaria significativamente más temprana en pacientes que recibieron una ventilación de protección (40).

Existe una clara evidencia que demuestra que la ventilación de protección pulmonar reduce los mediadores inflamatorios y la morbimortalidad de los pacientes con SDRA. Más recientemente surgen datos que sugieren un efecto protector de esta estrategia de ventilación en pacientes con elevado riesgo a padecer SDRA como en cirugía con circulación extracorpórea y en cirugías que se asocian a intubaciones prolongadas, lo que, sumado a la aparente ausencia de efectos secundarios parecen recomendar su uso más generalizado y no restringirlo al tratamiento de pacientes con SDRA.

1.1.2 DAÑO PULMONAR ASOCIADO A VENTILACIÓN UNIPULMONAR

La ventilación de un solo pulmón o unipulmonar (VUP) se utiliza usualmente para crear un campo quirúrgico adecuado en cirugía torácica, debido a que mantener sin ventilar un pulmón resulta fundamental para observar y manipular correctamente el campo quirúrgico, especialmente en cirugía por toracoscopia.

Esto trae como consecuencia evidente un aumento del shunt pulmonar, es decir, zonas perfundidas pero no ventiladas en las que no puede ocurrir intercambio gaseoso, por lo cual el mantenimiento de una adecuada oxigenación se ha considerado tradicionalmente como uno de los retos durante su uso. Reportándose en los primeros estudios una hipoxemia intraoperatoria hasta del 40% de los pacientes (41,42).

El lecho vascular pulmonar muestra una característica singular que consiste en la vasoconstricción del árbol arterial cuando está en presencia de hipoxia tisular, fenómeno denominado vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH) (43).

El mecanismo por el cual ocurre esta vasoconstricción no está totalmente definido. Sin embargo, una de las hipótesis más aceptadas propone que la hipoxia sobre la célula muscular lisa pulmonar es capaz de liberar pequeñas cantidades de calcio intracelular, estas a su vez actúan sobre canales de potasio en la membrana plasmática y producen una despolarización que permite la entrada de grandes cantidades de calcio por canales voltaje dependientes lo que permitirá la interacción actina-miosina que caracteriza la contracción (44).

Se piensa que este es un mecanismo adaptativo fisiológico para derivar la sangre de regiones menos ventiladas a regiones mejor ventiladas para mejorar la relación ventilación-perfusión. Este mecanismo disminuirá el shunt presente durante la VUP al desviar (hasta cierto punto) la sangre del pulmón no ventilado al pulmón ventilado.

Lógicamente la inhibición de esta VPH por parte de cualquier agente farmacológico irá en detrimento de la oxigenación arterial. Por otro lado, otros mecanismos asociados a la cirugía como la posición en decúbito lateral y la manipulación quirúrgica pueden contribuir a la disminución del shunt al desviar la sangre al pulmón ventilado.

Con el paso del tiempo y probablemente en relación con el uso dispositivos de aislamiento pulmonar más eficaces, de la verificación de su correcta colocación con fibrobroncoscopio y de la utilización de agentes anestésicos con menor efecto sobre la VPH (45–47), los episodios de hipoxemia durante la cirugía han disminuido su frecuencia, incluso algunas series reportan cifras de hasta el 1% (48). Paralelamente el daño pulmonar asociado a la ventilación mecánica ha ganado protagonismo y es probablemente una de las principales preocupaciones en el manejo anestésico durante la VUP.

Clásicamente la hipoxemia durante la VUP se ha manejado además de con el aumento de la fracción inspirada de oxígeno, con el uso de volúmenes corrientes tan altos como en la ventilación bipulmonar (10-12 ml/Kg), teóricamente para aumentar la ventilación alveolar. Así como con PEEP bajas o de cero (ZEEP “zero end expiratory pressure”) para evitar que la sangre se desvíe de áreas ventiladas a no ventiladas, un fenómeno que podría contrarrestar el efecto protector de la VPH (49,50). Sin embargo la evidencia existente en torno al VALI y la ventilación de protección pulmonar ha hecho replantearse esta manera de ventilar durante la VUP.

En modelos animales de VUP el uso de ventilación convencional es capaz de producir daño pulmonar que puede prevenirse utilizando una estrategia de ventilación protectora con volúmenes corrientes más bajos y aplicación de PEEP (51,52).

El beneficio encontrado con la ventilación protectora puede ser secundario a diferentes factores o a la suma del conjunto de ellos. La evidencia existente respecto a estos factores podemos resumirla de la siguiente manera: 1) la disminución del volumen corriente durante la VUP sin modificar la PEEP se asocia con una menor elevación de citoquinas en el LBA de los pacientes sometidos a VUP (53), 2) la disminución del volumen corriente va invariablemente asociada a una disminución en las presiones en la vía aérea; en este sentido estudios retrospectivos han demostrado que las presiones elevadas en la vía aérea son un factor de riesgo independiente de presentar daño pulmonar tras la cirugía de resección pulmonar (54,55). Aceptando esto como cierto, el uso de diferentes modos de ventilación controlada podría tener influencia con la aparición de daño pulmonar ya que existe evidencia de que la ventilación controlada por presión (en la que existe un flujo máximo inicial al comienzo de la inspiración hasta que se alcanza la presión marcada y luego ocurre un flujo desacelerado mientras se distribuye todo el volumen) en comparación con la controlada por volumen (en la que se utiliza un flujo inspiratorio constante) se asocia a una disminución estadísticamente significativa de las presiones en la vía aérea aportando el mismo volumen corriente (56), 3) además la disminución en el volumen corriente puede ir asociada a una disminución del volumen minuto si no se realiza una modificación correspondiente de la frecuencia respiratoria con la consecuente elevación del CO₂ en sangre; algunos autores defienden que la hipercapnia en sí misma puede atenuar la respuesta de las citoquinas y de esta manera ser un factor protector frente a la aparición de daño pulmonar (57,58).

Por otro lado, durante la anestesia general con o sin parálisis muscular se modifica la estructura pulmonar y la posición del diafragma lo que promueve la aparición de atelectasias pulmonares (59). Esto se suma a que la colocación de un tubo

endotraqueal impide el cierre de las cuerdas vocales y la generación fisiológica de auto-PEEP. Durante la VUP estos fenómenos se aumentan debido al frecuente uso una FiO₂ elevada que ha demostrado causar atelectasias por reabsorción incluso con breves períodos de uso (60,61).

Algunos autores han demostrado que este colapso alveolar es tanto una causa como una manifestación de daño pulmonar, y que la reexpansión de los alveolos colapsados puede provocar un daño incluso a alveolos no atelectásicos (62). Por lo tanto, la aparición de atelectasias pulmonares son perjudiciales, y particularmente importantes durante la VUP. Ya que causarán, un aumento del shunt y el riesgo de hipoxemia, además del de daño pulmonar.

Una vez que aparecen las atelectasias, las maniobras de reclutamiento alveolar son útiles para reexpandir el pulmón colapsado, pero estudios animales demuestran que su uso va asociado a cierto grado de daño pulmonar (63). De forma que, idealmente, se debe evitar su uso frecuente y mantener el “pulmón abierto” durante el uso de una ventilación protectora.

La aplicación de PEEP que es el otro pivote de la ventilación de protección evita el colapso alveolar y la formación de atelectasias pulmonares al garantizar una presión positiva durante toda la espiración. Su uso cobra particular relevancia al utilizar volúmenes corrientes bajos ya que existe una mayor tendencia a las atelectasias.

En resumen, la ventilación protectora va asociada a la disminución del volumen corriente y la aplicación de PEEP pero también al uso de presiones bajas en la vía aérea, hipercapnia permisiva y disminución de la FiO₂.

Desde el punto de vista clínico respecto al daño pulmonar asociado a VUP la mayor evidencia debido a su más frecuente utilización, la encontramos en la cirugía torácica. Estudios observacionales reportan que una ventilación de protección

pulmonar disminuye el SDRA y atelectasias postoracotomía, así como los ingresos en unidades de cuidados intensivos y los días de hospitalización comparada con una ventilación convencional (64,65). Dos estudios prospectivos aleatorizados observan una disminución en los marcadores inflamatorios locales y sistémicos, además de un mejor índice de oxigenación y una extubación más temprana con esta estrategia ventilatoria (66,67). Sin embargo, incluso con ventilación de protección pulmonar se observa una elevación de citoquinas pulmonares y sistémicas que sugieren cierto grado de lesión tisular (67–70).

1.1.3 DAÑO PULMONAR POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

Durante la cirugía de resección pulmonar, en el pulmón colapsado se produce una disminución de la concentración de oxígeno secundario a la VUP y la consecuente VPH que causa cierto grado de daño isquémico celular y que desencadena una cascada intracelular.

Con el inicio del metabolismo anaerobio y la producción de ácido láctico, se produce una disminución de las reservas de ATP y de la función de las bombas transportadores de iones dependientes de ATP. Posteriormente se produce una despolarización celular, aumento de la concentración de calcio intracelular con activación de endonucleasas, fosfolipasas y ATPasas que causan daño mitocondrial y liberación de enzimas proapoptóticas entre otras.

Por otro lado, al restablecer la ventilación bipulmonar y mejorar la perfusión tisular puede ocurrir otro tipo de lesión por reperfusión en la que intervienen factores endoteliales, neutrófilos y la formación de radicales libres de oxígeno o nitrógeno (71).

La formación de especies reactivas de oxígeno (reactive oxygen species ROS) tales como superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o radicales hidroxilo (OH^\cdot) y especies reactivas de nitrógeno (reactive nitrogen species RNS) como dióxido de nitrógeno (NO_2) trióxido de dinitrógeno (N_2O_3) o peróxinitrito ($ONOO^-$) por parte de células inmunológicas, endoteliales y epiteliales pulmonares en respuesta a los estímulos inflamatorios, contribuyen en el daño pulmonar. Estas especies reactivas son capaces de actuar sobre los diferentes componentes de la célula (proteínas, lípidos, DNA) y causar desde pequeñas perturbaciones reversibles gracias a los elementos antioxidantes celulares (72) hasta daños irreversibles con la consecuente muerte celular por apoptosis o incluso necrosis (73).

En pacientes con SDRA el tejido pulmonar es especialmente susceptible a la formación de estos compuestos, en parte debido al incremento en la concentración de O_2 a la que se expone el tejido para lograr una adecuada oxigenación sanguínea (74,75), a la migración y activación de neutrófilos y macrófagos que utilizan estas especies como mecanismo central en la eliminación de patógenos (76,77), o a la utilización de óxido nítrico inhalado como vasodilatador pulmonar para mejorar la oxigenación arterial (78,79).

La formación de estas especies reactivas ha sido asociada al inicio y progresión de SDRA tanto en modelos animales como en estudios clínicos observacionales (80).

Diferentes autores describen una alta tasa de estrés oxidativo que afecta a proteínas y ácidos grasos (81–83) y que es mayor en pacientes con peor curso de la enfermedad (84). Junto a ello, ocurre una quimiotaxis y activación de neutrófilos que acompaña a la elevación de citoquinas proinflamatorias (85–87), y un aumento de la actividad de proteínas reguladoras de la transcripción de genes inflamatorios como NF- κB (88,89). De allí la idea de algunos autores de que aumentar el aporte de moléculas

antioxidantes a pacientes con SDRA puede ayudar a disminuir la intensidad del cuadro (90).

El daño ocasionado por la isquemia es intuitivamente más comprensible y lógicamente va en relación con la duración del período de isquemia. Sin embargo, la importancia de la lesión por reperfusión se destaca en algunos estudios.

En un estudio que pone en evidencia lo anterior, se utilizó el malondialdeído (producto de la peroxidación lipídica) como índice de formación de radicales libres, y los autores observaron que en pacientes a los que se le realizó neumonectomía en comparación con lobectomías tenían menores niveles de malondialdeído, justificando esto gracias a que no ocurre la reperfusión de tejido pulmonar no resecado como ocurre en las lobectomías. De esta manera se da un papel central a la reperfusión como mecanismo generador de radicales libres (91), y que puede tener relación con complicaciones mayores después de la cirugía torácica (92).

En definitiva existe evidencia clínica y experimental de que la VUP aumenta la producción y liberación de radicales libres, lo cual, junto con el secuestro neutrofílico y el daño endotelial y epitelial serán las principales causas del daño por isquemia-reperfusión que se produce en estas cirugías.

1.1.4 ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN PULMONAR POSTOPERATORIA EN CIRUGÍA DE TÓRAX

Las complicaciones pulmonares son la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad tras la cirugía de resección pulmonar (93), su incidencia varía según las series y el tipo de resección pulmonar pero pueden llegar hasta un 30% (94). Entre las complicaciones pulmonares más frecuentes encontramos las neumonías (6%),

atelectasias (5%), fistulas broncopleurales (5%) y los embolismos pulmonares (5%) (94). La aparición de este tipo de complicaciones prolongan el ingreso hospitalario de forma significativa (93), lo cual conlleva a una repercusión económica importante (95,96).

Dentro de las complicaciones pulmonares el SDRA es la complicación más dramática debido a su elevada mortalidad (97). El primero en reconocerlo como un síndrome específico en un estudio multicéntrico fue Zeldin, que lo describió inicialmente como edema pulmonar postneumonectomía por su asociación con las neumonectomías derechas, además de con la sobrecarga intraoperatoria de fluidos y la diuresis elevada (98). Sin embargo, hoy en día sabemos que puede darse en cualquier tipo de resección pulmonar.

En Berlín en 2011 un comité de expertos redefine los criterios diagnósticos del SDRA y son los que se mantienen vigentes en nuestros días (99). Hasta entonces, el ALI (“acute lung injury”) y el SDRA conformaban diferentes estadios del mismo cuadro clínico, que se caracteriza por una insuficiencia respiratoria con un cociente $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (presión arterial de O_2 / Fracción inspirada de O_2) menor de 300 mmHg en el caso del ALI y menor de 200 mmHg para el SDRA. Ambos son secundarios a un edema pulmonar no cardiogénico (con una presión capilar pulmonar normal), con infiltrados pulmonares bilaterales en la radiografía de tórax (100).

Con la nueva definición desaparece el concepto de ALI que es remplazado por el de SDRA leve ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ mmHg.), y aparece el SDRA moderado ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ mmHg.) y grave ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100$ mmHg.). Siempre debe darse en pacientes con ventilación mecánica y al menos 5 cm de H_2O de PEEP o CPAP (“continuous positive airway pressure”). Por otro lado, se afinan los criterios diagnósticos agregando temporalidad, y se indica que debe ser un cuadro clínico de inicio en los 7 días

siguientes a un evento desencadenante (cirugía, neumonía, sepsis). Además, se modifica el criterio para descartar edema pulmonar cardiogénico, en vez de con un catéter de arteria pulmonar, se emplea la ecocardiografía en los pacientes sin factores de riesgo para SDRA.

El aporte más importante de estos criterios diagnósticos es que tienen un valor para la predicción de la mortalidad significativamente mayor que los anteriores (ROC 0,577 Vs 0,536 $p < 0.001$).

El SDRA tiene una incidencia general entre 15-35 casos por cada 100.000 habitantes / año y una mortalidad de entre el 20-40% pero que puede llegar al 90% según las series (101–104).

En la estratificación del nuevo consenso la mortalidad asociada al SDRA leve es de 27%, al moderado de 32% y al grave de 45% (99).

El SDRA leve (antiguo ALI) se presenta en alrededor del 4% de los pacientes sometidos a cirugía de resección pulmonar. Entre estos pacientes se puede distinguir un ALI primario, el mas frecuente (hasta un 70% de los casos), que ocurre en los 3 primeros días postoperatorios y que presenta una mortalidad del 26%; y un ALI secundario que ocurre al 30% restante, que se asocia a un factor desencadenante y presenta una mortalidad del 60% (54). El SDRA secundario, puede ser causado por un daño pulmonar directo como neumonías, aspiraciones, contusiones; o por mecanismos indirectos como en sepsis, pancreatitis, quemados; pudiendo contribuir en su patogenia cierta predisposición genética (102,105).

Estudios recientes demuestran que la ventilación mecánica puede causar un daño pulmonar subclínico que se puede volver clínicamente relevante si se asocia a otros factores que lesionen al pulmón (8,25,64,106).

La característica fisiopatológica principal del SDRA es una lesión endotelial que aumenta la permeabilidad vascular dificultando la oxigenación. Sin embargo, el daño epitelial también es importante, por ejemplo el daño del neumocito tipo II reducirá la producción de surfactante empeorando las atelectasias y el intercambio gaseoso (107), además de contribuir en la producción de citoquinas que desencadenan la respuesta inflamatoria (108).

Este daño endotelial y epitelial pulmonar es consecuencia de una reacción inflamatoria con liberación de mediadores de forma tanto localizada como sistémica. Es importante destacar el daño de ambos tipos celulares, ya que si únicamente existiera un daño endotelial que aumentara la salida de líquido al espacio extravascular, ocurriría una alteración de la relación ventilación/perfusión transitoria que eventualmente se revertiría al eliminar el líquido del espacio alveolar e intersticial. Sin embargo, el daño epitelial perpetúa el proceso con cambios tisulares de remodelación y fibrosis (109). Histológicamente se distinguen tres fases secuenciales: exudativa con importante edema intersticial y alveolar, proliferativa con secuestro celular y daño alveolar difuso y una fase fibrótica con una red de remodelación pulmonar (110).

En pacientes sometidos a cirugía de resección pulmonar también se ha observado una mayor actividad protrombótica (111), esta es más evidente en pacientes sometidos a pneumonectomía al compararlo con lobectomías (112). Así mismo otros estudios han relacionado los niveles de fibrinógeno como predictor de complicaciones tras una resección pulmonar (113).

Por otro lado, en pacientes con SDRA también ocurre un desbalance de la regulación con tendencia a un estado procoagulante (114). El daño de la barrera alveolo-capilar conlleva a la formación de fibrina intersticial y alveolar, a partir de la vía extrínseca de la coagulación. Esta es consecuencia del daño microvascular, gracias

en parte, al contacto de Factor VII con factor tisular y a la exposición de proteínas como el fibrinógeno, que normalmente no se encuentran en el espacio alveolar ni intersticial (115–117). Además, en pacientes con SDRA se encuentran niveles elevados de inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) y niveles disminuidos de proteína C los cuales contribuyen al estado procoagulante y que son factores de riesgo independientes para mortalidad y peor pronóstico de la enfermedad (118).

Licker y cols. describen clínicamente a la ventilación mecánica como el principal desencadenante del daño pulmonar, y utilizan un índice que toma en cuenta la duración de la VUP y el aumento de las presiones en la vía aérea para estratificar la gravedad del daño causado por la misma. Además, también identifican otros factores de riesgo para el SDRA en cirugía de resección pulmonar, entre ellos se encuentran la infusión perioperatoria de líquidos, la pneumonectomía y el alcoholismo (54). Los dos primeros factores en relación con el aumento del volumen intravascular y la presión hidrostática, que se suma al daño endotelial y aumenta el edema intersticial; y en el caso del alcoholismo en relación a la disminución de las reservas de glutatión, que es un importante antioxidante pulmonar (119).

Hasta ahora, el manejo de este cuadro clínico consiste en ofrecer soporte ventilatorio mientras se corrige la causa desencadenante del mismo.

En los últimos años lo único que ha demostrado mejorar la mortalidad en estos pacientes es modificar la forma de ventilarlos disminuyendo el volumen corriente de 10-15 ml/Kg, como tradicionalmente se hacía, a 6-7 ml/Kg (16,120,121).

Esto sin duda ha despertado el interés sobre el mecanismo por el cual ocurre este efecto beneficioso, que probablemente esté relacionado con la respuesta inmunológica que sucede como consecuencia directa de la ventilación mecánica.

Los pacientes con SDRA normalmente no mueren por insuficiencia respiratoria sino por fallo multiorgánico usualmente acompañado de infecciones nosocomiales (122–125).

Varios estudios clínicos apoyan que los pacientes con fallo multiorgánico tienen un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica mediado por citoquinas (126,127).

La ventilación mecánica causa una elevación de mediadores inflamatorios tanto a nivel local como sistémico (128,129) que puede contribuir a la formación o empeoramiento del fallo multiorgánico, este proceso se ha denominado biotrauma (130).

La evidencia indica que una compleja red de citoquinas juegan un papel crucial en la formación, mediación, amplificación y perpetuación del daño pulmonar y la respuesta inflamatoria sistémica. La presencia de citoquinas pro y antiinflamatorias modulan la intensidad de esta respuesta inflamatoria.

En cirugía de resección pulmonar, al igual que en el resto de las cirugías, existe un interés creciente en la evaluación de la respuesta inflamatoria, a través de la liberación de mediadores que ocurre secundaria al estrés quirúrgico, y de su relación con la tasa de complicaciones tempranas y el pronóstico quirúrgico a largo plazo (131,132).

En ese sentido, se ha comparado la respuesta inflamatoria de los pacientes sometidos a cirugía toracoscópica (VATS “video assisted thoracic surgery”) frente a los que se les realizó toracotomía y se observó una menor respuesta inflamatoria en los pacientes sometidos a VATS, los cuales a su vez presentan una mejor función pulmonar, menor dolor postoperatorio y mayor supervivencia (133,134). Más recientemente se ha remarcado la posibilidad de que esta menor respuesta inflamatoria se asocie a una

menor recurrencia de cáncer (135), lo cual entre otros mecanismos puede ser secundario a un menor deterioro sobre las células citotóxicas en la VATS (136).

La respuesta inflamatoria que ocurre secundaria tanto a la agresión quirúrgica como a la ventilación mecánica, es similar a la que ocurre ante otros tipos de agresión (incluido la infección por patógenos). En esta, se activan por una parte los mecanismos celulares de defensa, cuyo principal efector es el leucocito polimorfonuclear (PMN), y simultáneamente un mecanismo humoral regulador de la actividad.

1.2 MARCADORES BIOLOGICOS DEL DAÑO PULMONAR PERIOPERATORIO

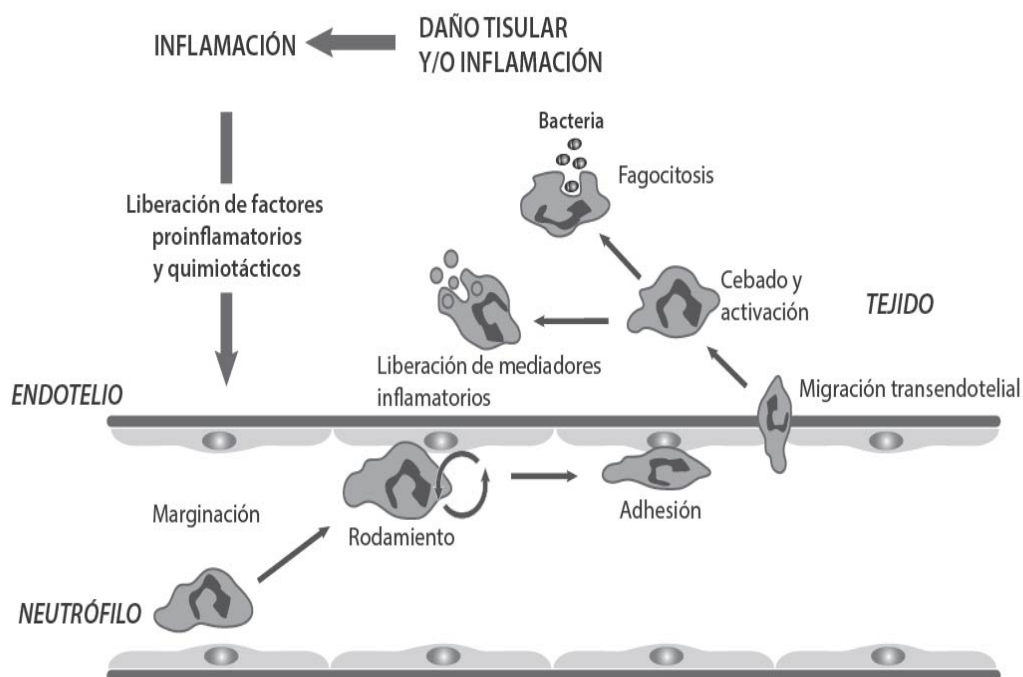
1.2.1 RESPUESTA CELULAR EN LA INFLAMACIÓN

Los neutrófilos son los principales efectores de la respuesta inflamatoria celular, constituyen el 70-80% de las células en el lavado broncoalveolar (LBA) de los pacientes con SDRA comparado con el 1-3% de los pacientes normales (137). Se encuentran en el sistema circulatorio y migran a los tejidos afectados atraídos por IL-8 entre otros quimioatrayentes. En el proceso de migración requieren de interacciones con proteínas de membrana de la célula endotelial. El proceso de migración se puede dividir de forma pedagógica en varias etapas (138) (fig. 2) :

- 1) El enlentecimiento del flujo sanguíneo y la expresión de moléculas de adhesión sobre la célula endotelial promueve el contacto y **rodamiento** inicial del leucocito al endotelio, que se trata de un proceso reversible.
- 2) Posteriormente el leucocito polimorfonuclear se **adhiera** al endotelio en una unión más firme e irreversible por mediación de las integrinas I-CAM (“intercellular cell adhesion molecule”), V-CAM (“vascular cell adhesion molecule”).

- 3) A continuación se produce la **migración** transendotelial o diapédesis a través de las uniones intercelulares del endotelio.
- 4) Una vez el leucocito deja el torrente sanguíneo se dirige por la matriz extracelular atraído por los agentes quimiotácticos incluyendo leucotrienos, interleuquinas y sustancia P. Estos agentes estimulan receptores celulares asociados a proteínas G que activan al citoesqueleto de actina del leucocito PMN, modulando así su movimiento en un proceso dependiente de calcio.
- 5) Estas sustancias junto con el complemento y las inmunoglobulinas son capaces de **cebar/activar** al leucocito a producir y liberar lisozimas, radicales libres, especies reactivas de O₂, leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas que ejercen su acción destructora sobre patógenos o tejidos.

Figura 2. Migración del leucocito polimorfonuclear

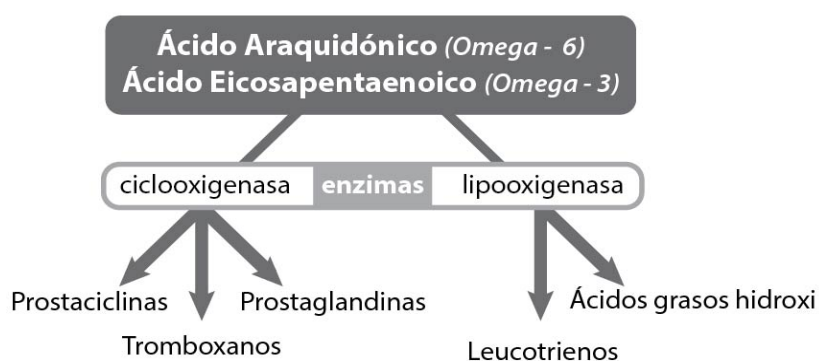


El ácido araquidónico derivado de las membranas celulares gracias a la acción de las fosfolipasas es esencial para el desarrollo de la inflamación. Este, es el precursor de prostaglandinas y tromboxanos si se degrada por la vía de la ciclooxigenasa y de

leucotrienos si se degrada por acción de la lipooxigenasa (fig. 3), proceso que ocurre en variedad de células inflamatorias y no únicamente en el PMN.

Tanto leucotrienos como tromboxanos y prostaglandinas actúan sobre múltiples receptores incluyendo células nerviosas, endoteliales, musculares lisas y hematológicas participando activamente en el proceso inflamatorio.

Figura 3. Metabolismo del ácido araquidónico



La utilización de las enzimas lisosomales de los polimorfonucleares es consecuencia de la fusión de la membrana lisosomal con la membrana plasmática o con la vacuola fagocítica en un proceso dependiente de calcio y que involucra al citoesqueleto de actina. Una vez liberadas estas enzimas realizan su acción lítica sobre los agentes extraños.

Los polimorfonucleares además de tener gránulos grandes y específicos como los que contienen lisozimas, histamina, colagenasa, etc. también tiene gránulos más pequeños llamados azurófilos y que contienen en su interior enzimas como mieloperoxidasas, proteasas, hidrolasas ácidas, etc. Ambos tipos de gránulos pueden fusionarse a las vacuolas fagocíticas que contienen el material ingerido ayudando así a la digestión de su contenido.

La destrucción del material ingerido no ocurre únicamente por acción directa de enzimas líticas, sino también como consecuencia de la formación de especies reactivas

de oxígeno y de nitrógeno dentro de los fagosomas que interactúan y dañan los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos de organismos extraños y del propio huésped (138). Estas especies reactivas son formadas por enzimas como la superóxido dismutasa, NADPH oxidasa (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) o mieloperoxidasa.

En el SDRA los neutrófilos juegan un papel fundamental. Diversos estudios han demostrado no solo su abundancia y la de sus productos en los LBA de pacientes que lo padecen (139–141), sino también el aumento de la mortalidad en pacientes a los que al realizar LBA seriados persiste un recuento elevado de los mismos (142).

Los neutrófilos son las células claves de esta respuesta inflamatoria, varios modelos experimentales han demostrado que el bloqueo en su migración y la depleción de neutrófilos de ciertos animales atenúa el cuadro clínico (143–146), a la vez, en pacientes neutropénicos con SDRA el aumento del conteo de neutrófilos se ha asociado a empeoramiento del cuadro (147).

Sin embargo, también puede observarse un SDRA en pacientes neutropénicos (148–151). Lo que demuestra que los neutrófilos no son imprescindibles para causar SDRA.

Tampoco basta con un elevado número de PMN en el tejido pulmonar para causar SDRA. Lo cual se demostró al reclutarlos con leucotrieno B₄, instilado intrabronquial, a pacientes voluntarios sin que cambiara significativamente la permeabilidad capilar pulmonar (152). Sin embargo, no hay duda de que contribuyen en la patogénesis de cuadro junto con las células epiteliales, endoteliales y otras células inmunológicas, así como diversas citoquinas proinflamatorias .

Otras células inmunológicas también están involucradas en esta respuesta inflamatoria. Tanto los macrófagos tisulares, como los linfocitos T y las natural killer (NK) son capaces de diferenciarse en subtipos celulares dependiendo del estímulo que

los active. Esta diferenciación puede ser de dos tipos según el perfil de citoquinas que se exprese.

Las células con respuesta tipo I están fundamentalmente ligadas a la inmunidad mediada por células y liberan TNF- α (tumor necrosis factor alpha), IL-1 β (interleuquina 1 β), IFN- γ (interferón gamma), IL-2 (interleuquina 2). Mientras que las células con respuesta inmunológica tipo II expresan IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL10, IL-13 promoviendo así una reacción predominantemente humoral (153).

En el SDRA como en otros procesos inflamatorios ambas respuestas inmunológicas están activadas, por lo que la respuesta predominante que se observe en el paciente dependerá del balance de las citoquinas liberadas.

1.2.2 CITOQUINAS EN LA INFLAMACIÓN

Las citoquinas son proteínas de bajo peso molecular que forman parte de la comunicación celular regulando su función en diferentes procesos biológicos. Son producidas por casi la totalidad de las células nucleadas, pero particularmente por las células del sistema inmunológico, endotelio y epitelio.

Al igual que las hormonas pueden actuar de forma autocrina, paracrina, o endocrina (154). De forma habitual se liberan en muy pequeñas cantidades en el orden de los picomoles (10^{-12} M) pero su concentración puede aumentar hasta 1000 veces tras un traumatismo o infección.

Aunque están involucradas en procesos como diferenciación y maduración celular, hematopoyesis, metabolismo energético, reparación tisular o apoptosis, su principal función es la regulación de la respuesta inmune. Al actuar sobre receptores específicos de membrana y generan una cascada de señalización que altera la función

celular regulando positiva o negativamente la transcripción de diversos genes que resultan en la producción de otras citoquinas, receptores de membrana o la supresión de su propio efecto.

Cada citoquina puede ser sintetizada por más de un tipo de célula y actuar sobre diferentes tipos celulares. Cada célula puede expresar receptores para más de un tipo de citoquina. Además, citoquinas diferentes pueden tener la misma acción biológica, lo cual explica la complejidad del proceso regulatorio.

1.2.2.1 Interleuquina 8 (IL-8)

La IL-8 es una citoquina quimioatrayente (quimioquina), de la familia CXC, sintetizada principalmente por los macrófagos tisulares pero también por células epiteliales y endoteliales.

La función más importante es la atracción de neutrófilos pero además es un potente promotor de la angiogénesis (155).

Actúa sobre los receptores de membrana CXCR1 y CXCR2 que están acoplados a proteína G, que a su vez activa la fosfolipasa C para hidrolizar fosfatidilinositol y así formar segundos mensajeros que desencadenan una cascada de señalización intracelular (156). De esta manera promueven procesos de quimiotaxis, degranulación, y activación de integrinas celulares (155). También inhibe la apoptosis de polimorfonucleares (157–159).

Numerosos estudios en animales y humanos han demostrado que la ventilación mecánica con volumen corriente alto se asocia a niveles elevados de IL-8 (10,160,161) así como a un aumento en la expresión de sus receptores (162,163). Además al bloquear

específicamente estos receptores se observa una disminución significativa del secuestro de neutrófilos y del daño pulmonar, lo que se reafirma en animales tratados genéticamente para no expresar CXCR (162,164).

En pacientes con SDRA se han observado niveles elevados de IL-8, secuestro de neutrófilos y de actividad angiogénica en los LBA, y más importante aún la elevación de IL-8 en los LBA se ha asociado a mayor mortalidad en los pacientes con SDRA (165–167).

Otros estudios mencionan como mejor predictor de pronóstico y mortalidad a los inmunocomplejos IL-8:antiIL-8 (168–170). Aunque se desconoce el mecanismo exacto por el cual ocurre, se presume que estos autoanticuerpos anti IL-8 pueden regular la actividad de la IL-8 (171) por diferentes mecanismos: 1) inhibiendo su actividad biológica (171), 2) contribuyendo a la patogénesis de la inflamación al prolongar su vida media en la circulación y tejidos como ocurre con otras citoquinas (172), 3) activando macrófagos tisulares a producir otras citoquinas (173), 4) incluso estos inmunocomplejos pueden tener actividad citotóxica en otros modelos *in vivo* (174).

1.2.2.2 Interleuquina 16 (IL-16)

Puede ser sintetizada por múltiples células inmunológicas en respuesta a una agresión. Su expresión promueve la producción de IL-8, péptido quimiotáctico de monocitos (MCP-1), péptido 1α inflamatorio de macrófagos (MIP- 1α), activador epitelial de neutrófilos (ENA-78), y moléculas de adhesión en las células endoteliales (175).

Actúa sobre varios tipos de receptores que pueden encontrarse bien en la membrana celular IL-1RI y IL-1RII (176), o bien en la circulación y el espacio extracelular sIL-1RI y sIL-1RII (177).

La IL-1 β se une a estos receptores con una afinidad variable y puede activar una cascada intracelular, principalmente por la vía de NF- κ B promoviendo la transcripción de los genes de las proteínas inflamatorias antes mencionadas (178), o si se trata de un sIL-1R puede modificar su función biológica aumentándola o disminuyéndola (177). Por el contrario su antagonista natural IL-1Ra se une a sus receptores sin promover ninguna señal intracelular (175,179).

Al comparar pacientes con SDRA con controles, se encuentran niveles elevados de IL-1 y IL-1Ra tanto en LBA como en suero (180,181). Además, niveles elevados de IL-1 en LBA, a los 7 días de iniciado el cuadro, se asocia a un aumento de la mortalidad de los pacientes con SDRA (182). Mientras que la disminución en la concentración de IL-1Ra conlleva a una mayor mortalidad en los pacientes con SDRA (183).

La ventilación mecánica protectora con volúmenes corrientes bajos se asocia a una disminución de esta citoquina (181). En modelos animales de VILI (ventilator induced lung injury) también se observa una elevación de IL-1 en etapas tempranas de la respuesta (19,184) y el uso de IL-1Ra inhalado disminuye el daño causado por la ventilación mecánica (185).

1.2.2.3 Factor de necrosis tumoral α (TNF- α)

Al igual que la IL-1 β está relacionado con la respuesta inmunológica tipo I, es sintetizado principalmente por los macrófagos, aunque puede sintetizarse por otras células inmunológicas y no inmunológicas (186). Actúa también sobre dos tipos de

receptores de membrana TNF- α RI y TNF- α RII. Vía NF- κ B activa la transcripción de mediadores inflamatorios como: receptores de IL-2, complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) tipo 2, y mejora la actividad citolítica de las células NK (187–189). También puede actuar vía MAPK fundamentalmente a través de la proteína JNK (c-Jun N-terminal kinases) involucrada en la diferenciación y proliferación celular así como en la apoptosis (190,191), y es capaz de inducir apoptosis activando la caspasa 8, aunque se trata de un mecanismo menor comparado con el sistema Fas/FasL (proteína Fas y su ligando) (192).

Sus antagonistas los receptores solubles sTNF- α R son capaces de regular su actividad, por lo que su efecto biológico dependerá del balance final de ambos (193–195).

Tanto TNF- α como sus receptores solubles están elevados en los LBA y suero de pacientes con SDRA, lo mismo que su actividad biológica (180,182,196–199). Diversos autores han demostrado que niveles elevados de TNF- α y sTNF- α R en LBA se correlacionan con peor evolución clínica en pacientes con SDRA (182,196,197) y tanto en LBA como en suero el TNF- α tiene buen valor predictivo negativo (VPN) para el desarrollo de SDRA (199).

La ventilación de protección pulmonar disminuye los niveles de TNF- α y sTNF- α R en LBA de pacientes con SDRA en comparación con la ventilación convencional (181). A su vez, en modelos animales de VILI se observa un aumento de TNF- α de forma paralela a estrategias de ventilación más agresivas tanto *ex vivo* (19) como *in vivo* (184). Un modelo de VILI en conejos demostró mejoría en la oxigenación y la complianza, así como menor reclutamiento de neutrófilos en animales previamente tratados con anticuerpos anti-TNF- α intratraqueal (200).

Aunque múltiples estudios prospectivos han fallado en demostrar mejoría en la mortalidad de pacientes sépticos en tratamiento con anti-TNF- α (201–204).

1.2.2.4 Interleuquina 2 (IL-2)

Es necesaria para el crecimiento, proliferación y diferenciación de linfocitos T y células NK. También promueve la producción de inmunoglobulinas por parte de los linfocitos B y de otras citoquinas como IL-1 y TNF- α (205–207), además es capaz de inhibir la apoptosis de polimorfonucleares (208).

Actúa a través de receptores de membrana IL-2 α e IL-2 β activando las vías de señalización intracelular Ras-MAPK y JAK-STAT.

Al igual que con otras citoquinas proinflamatorias, en pacientes con SDRA se han encontrado valores séricos y en LBA de IL-2 más elevados en pacientes con peor pronóstico de la enfermedad. Además IL-2 tiene unos buenos valores predictivos positivos (VPP) y negativos para predecir mortalidad en pacientes con SDRA (209).

Otro estudio, por el contrario, demostró en pacientes que desarrollan SDRA valores séricos de IL-2 bajos y muy elevados en LBA al compararlo con controles o pacientes críticos que no desarrollaron SDRA (210). Lo cual podría explicarse gracias a una mayor inhibición de la apoptosis de neutrófilos secundaria a IL-2 (210).

Los bloqueantes de IL-2 y de sus receptores se utilizan de forma rutinaria para la inmunosupresión de pacientes trasplantados. También se han utilizado para el tratamiento de varios tipos de cáncer y de infecciones virales crónicas (211–214). Sin embargo, en algunos pacientes se ha observado un SDRA como efecto secundario a su utilización (215–218).

1.2.2.5 Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1)

Pertenece a la familia de las quimioquinas CC. A diferencia de las CXC, que reclutan principalmente neutrófilos, esta recluta fundamentalmente monocitos pero también células NK, basófilos, eosinófilos, linfocitos T o células dendríticas a los sitios de inflamación (219–221).

Actúa a través de receptores de membrana CCR2 y CCR4 que están asociados a proteína G, aunque también puede actuar mediante MAPK y NF- κ B (222–225).

En pacientes con SDRA, se han encontrado niveles elevados de MCP-1 y se han asociado a peor pronóstico de la enfermedad (182,226–228). Otros estudios demuestran un papel importante del MCP-1 en la fibrosis pulmonar y la bronquiolitis obliterante (229). Además, en ausencia de su receptor CCR2, otros autores han observado un papel protector frente al SDRA (230).

En un modelo de daño pulmonar por hiperoxia en animales, se observó un papel del MCP-1 independiente de CCR2 y que involucra la síntesis de óxido nítrico como agente causal del daño alveolar (231).

1.2.2.6 Interlequina 6 (IL-6)

Se ha asociado a una respuesta inmune tipo II. Es secretada fundamentalmente por macrófagos y linfocitos T en respuesta a daño tisular e infecciones, y por miocitos en respuesta al ejercicio, también se libera en respuesta a otras citoquinas como IL-1 β y TNF- α (232).

Posee actividad proinflamatoria promoviendo el crecimiento y diferenciación celular en la médula ósea, además de la expresión genética de otros reactantes de fase aguda (233,234). También tiene actividad antiinflamatoria mediante la inhibición de IL-1 β y TNF- α , y es capaz de activar la expresión de IL-1Ra y de IL-10.

La IL-6 se une a su receptor de membrana IL-6R que posee una subunidad llamada gp130 (glucoproteína 130) que inicia la señalización intracelular fundamentalmente vía JAK-STAT (janus kinase – signal transducer and activator of transcription) que termina regulando la transcripción en el núcleo (235). Al igual que con otras citoquinas, existen receptores solubles de IL-6 (sIL-6R) que en su mayoría actúan como antagonistas, compitiendo por los mismos ligandos en las membranas que la IL-6. Sin embargo, algunos de estos sIL-6R actúan como agonistas formando complejos IL-6/sIL-6R que estimulan receptores que la IL-6 no es capaz de estimular por si misma (236–238).

En pacientes con SDRA se observan niveles elevados de IL-6 en LBA y sangre (137,181,239,240). Múltiples autores han observado que una elevación mantenida de IL-6 se asocia a peor pronóstico de la enfermedad en pacientes con SDRA, sepsis y pancreatitis (197,227,241,242).

Mientras que en modelos animales de VILI también se ha observado una elevada concentración en LBA y sangre de IL-6 (243–245).

1.2.2.7 Interleuquina 10 (IL-10)

Es producida fundamentalmente por macrófagos, pero también por linfocitos B y T (246), en respuesta principalmente a TNF- α (247).

Posee una importante actividad antiinflamatoria, es capaz de bloquear la síntesis de otras citoquinas (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α), disminuye la función de las células NK y la expresión de moléculas MHC tipo 2 (248,249).

Se une a un receptor de membrana IL-10R que posee dos subunidades α y β , su actividad está fundamentalmente mediada por la subunidad α que bloquea la translocación al núcleo de NF $\kappa\beta$ y activa la vía de señalización JAK-STAT (250,251).

En pacientes con SDRA esta citoquina se encuentra elevada en LBA (180,183,239,252), al igual que en modelos animales de VILI (19).

La tendencia entre el ratio TNF- α /IL-10 hacia un balance proinflamatorio ha sido relacionada con peor pronóstico en pacientes con SDRA (180,252), lo mismo que bajas concentraciones de IL-10 en el LBA (183).

El uso de IL-10 en modelos animales de SDRA, sepsis, fallo hepático y pancreatitis, demuestran un papel protector de esta interleuquina, al mejorar la supervivencia y la gravedad de la enfermedad (253–258).

En conjunto, estos estudios sugieren un efecto protector de la IL-10, sin embargo, probablemente su elevación en determinadas patologías puede no ser suficiente para contrarrestar el efecto proinflamatorio de otras citoquinas.

Tabla 1. Resumen de las principales citoquinas

CITOQUINA	ACCIONES	LUGAR DE SINTESIS
IL-8 (proinflamatoria)	Quimiotaxis y activación de leucocitos polimorfonucleares, inhibe su apoptosis y promueve la angiogénesis.	Células endoteliales y epiteliales, macrófagos y monocitos.
IL-1 β (proinflamatoria)	Promueve la síntesis de múltiples citoquinas, quimioquinas y moléculas de adhesión.	Principalmente monocitos y macrófagos, en menor medida otras células del sistema inmunológico.
TNF- α (proinflamatoria)	Aumenta la síntesis de citoquinas, activa células NK, promueve la apoptosis vía Fas/FasL.	Principalmente macrófagos, en menor medida otras células del sistema inmunológico.
IL-2 (proinflamatoria)	Crecimiento, proliferación y diferenciación de células inmunológicas, síntesis de citoquinas y promueve la producción de inmunoglobulinas.	Linfocitos T activados.
MCP-1 (proinflamatoria)	Quimiotáxis de monocitos, linfocitos T, células NK, basófilos y eosinófilos.	Principalmente monocitos, macrófagos y células dendríticas.
IL-6 (pro y antiinflamatoria)	Síntesis de inmunoglobulinas, crecimiento y diferenciación celular en la médula ósea.	Principalmente monocitos, macrófagos, linfocitos T y células endoteliales.
IL-10 (antiinflamatoria)	Disminuye la síntesis de múltiples citoquinas, y la función de las células NK.	Principalmente macrófagos, linfocitos B y T.

1.2.3 LA COMUNICACIÓN CELULAR

La célula se adapta al ambiente que le rodea gracias a la capacidad que tiene de responder frente a determinados estímulos. Estos estímulos desencadenan una vía de señalización intracelular basada en cambios bioquímicos que regulan la actividad celular. Usualmente estas vías de señalización consisten en modificaciones enzimáticas reversibles de proteínas celulares. Entre las más frecuentes están la fosforilación y O-glicosilación de residuos serina o treonina, la metilación de residuos arginina, la acetilación y ubiquitinación de lisina o bien la fosforilación de tirosina. Estas modificaciones ocurren en aminoácidos definidos en posiciones específicas de las proteínas que le confieren una morfología adecuada para la unión enzimática. La modificación del aminoácido producirá un cambio conformacional en la proteína que la hará más afín a otras proteínas o enzimas a las que antes no lo era o menos afín a sus inhibidores, produciéndose así una regulación de procesos biológicos como el crecimiento y diferenciación celular, apoptosis o inflamación (259–262).

Las proteínas quinasas son capaces de agregar grupos fosfatos a otras proteínas modificando su actividad, localización y función; dirigen la actividad de casi todos los procesos celulares, fundamentalmente la transducción de señales y la coordinación de funciones celulares complejas como el ciclo celular. Están compuestas por más de 500 proteínas divididas en grupos, familias y subfamilias dependiendo de su secuencia genética y su actividad biológica. Se describen 7 grupos, un grupo que fosforila proteínas en los residuos de tirosina (tirosín quinasas), otro las parecidas a tirosina quinasas (tyrosine kinase like TKL) y el resto de los grupos fosforilan proteínas en residuos serina o treonina (263,264).

1.2.3.1 MAPK

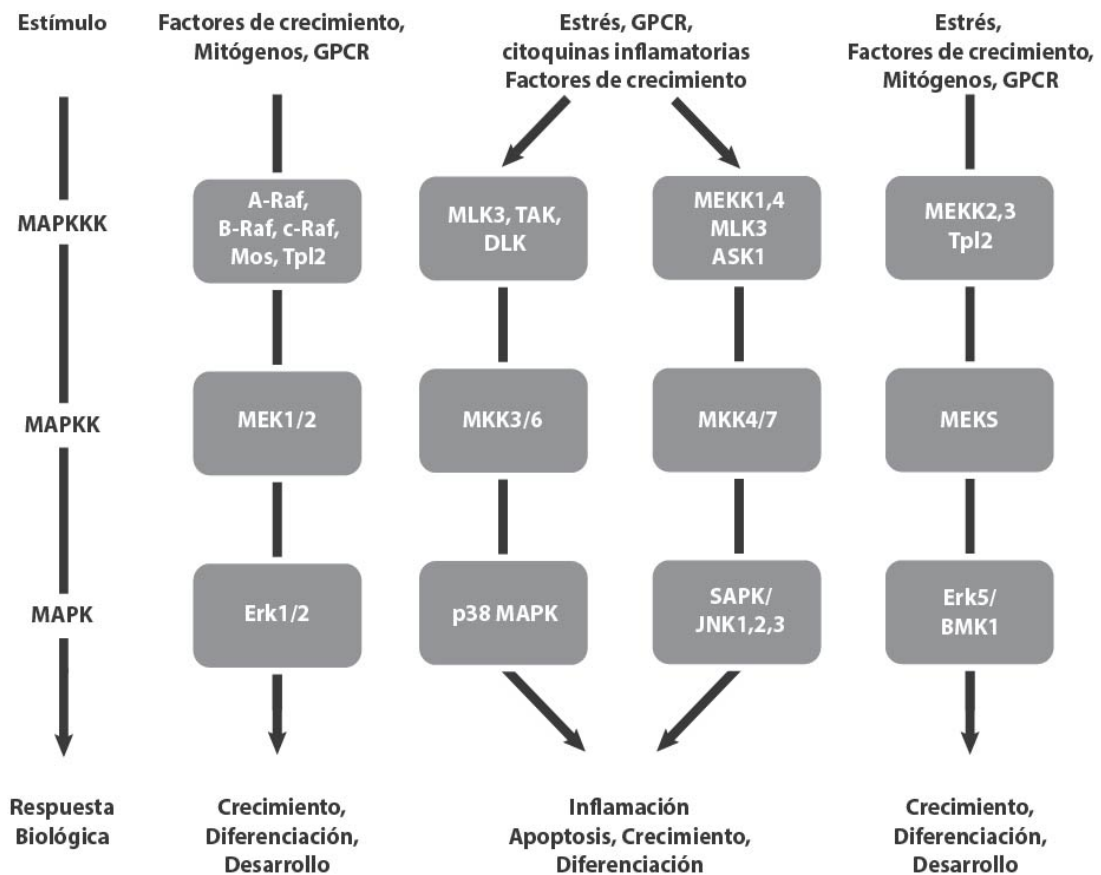
Las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK por sus siglas en inglés) pertenecen al grupo de fosforiladoras de residuos serina/treonina y su vía de señalización está organizada en tres etapas secuenciales.

Las MAPK, se encuentran en la parte final de la vía, y son activadas por fosforilación mediante quinasas de MAPK (MAPKK o MAP2Ks) que a su vez se activan al ser fosforiladas por quinasas de MAPKK (MAPKKK o MAP3Ks). Estas últimas en cambio son activadas en la parte inicial de la vía por pequeñas GTPasas y otras proteínas quinasas asociadas a receptores de membrana (265–269) (fig. 4).

Todas las proteínas involucradas en la vía de las MAPK pertenecen a alguna de las etapas mencionadas anteriormente. Por ejemplo la ERK 1 o la ERK2 (extracellular signal regulated kinases) son MAPK que median la respuesta a factores de crecimiento y que están involucradas en la proliferación y crecimiento celular. Mientras que la JNK o la p38 son MAPK que median la respuesta a estímulos dañinos como radiación, calor, citoquinas y están involucradas en la inflamación, diferenciación y apoptosis celular. Otras proteínas como MEKK1, MLK3, ASK1 son MAP3Ks capaces de actuar tanto en la vía de JNK como de p38. Mientras que MKK7 es una MAP2K específica de la vía de JNK (267).

Toda esta compleja red de procesos bioquímicos regulan finalmente la actividad celular.

Figura 4. Esquema general de MAPK



1.2.3.2 JAK/STAT

Esta vía de señalización transmite información desde fuera de la célula a través de la membrana plasmática al núcleo donde modifica la transcripción de determinados genes. La vía está compuesta por tres componentes principales, un receptor de membrana, una Janus quinasa (JAK) y una señal transmisora de la activación de la transcripción (STAT) (270,271).

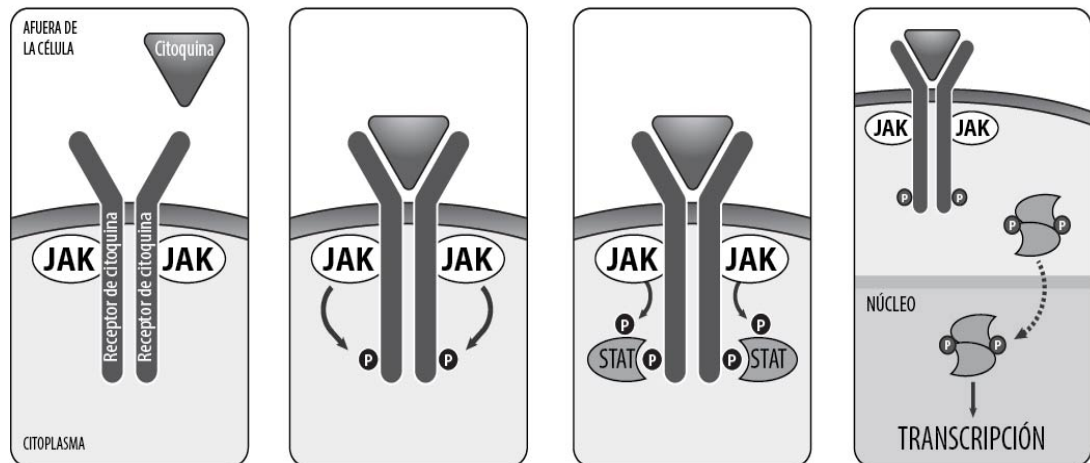
Moléculas como citoquinas o factores de crecimiento son capaces de interactuar con receptores de membrana produciendo un cambio conformacional en el mismo como por ejemplo una dimerización. Esta dimerización, activa la función fosforiladora de JAK que está asociada a dominios intracelulares de estos receptores de membrana.

Las JAK se autofosforilan sobre residuos tirosina creando de esta manera sitios para que interactúen proteínas que se unen a fosfotirosina.

Las STAT pueden unirse a la fosfotirosina y su interacción con la JAK produce a su vez la fosforilación de la primera. Una vez fosforilada es capaz de unirse a otra proteína STAT fosforilada y estos dímeros translocarse al núcleo donde promueven la transcripción de ciertos genes (fig. 5).

Existen 4 familias de JAK y 7 de STAT que forman las vías por las que transmiten señales hacia el interior de la célula (272–276).

Figura 5. Esquema general de JAK/STAT



1.2.3.3 NF- κ B/Rel

El factor nuclear κ B (NF- κ B) es una proteína que al igual que STAT o JNK regula la transcripción genética de forma rápida ya que se encuentran sintetizados en la célula en forma inactiva (277).

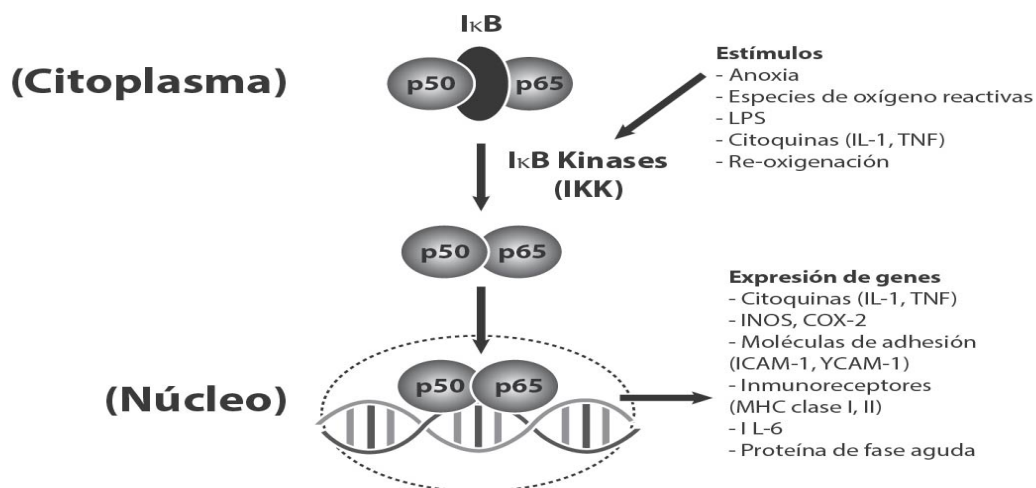
La familia NF- κ B está formada por 5 proteínas, 3 de ellas (RelA o p65, RelB y c-Rel) comparten en común un dominio transactivador (que aumenta la transcripción genética) en el extremo carboxilo terminal de la proteína y otras 2 proteínas (NF- κ B1 o

p50/p105 y NF- κ B2 o p52/p100) que están sintetizadas como precursores más grandes (p105 y p100) y que al modificarse en un proceso denominado ubiquitinación, dirige a las proteínas a proteosomas que las convertirán en subunidades activas más pequeñas (p50 y p52) (278,279).

En la vía clásica de activación de NF- κ B las proteínas NF- κ B/Rel se encuentran en el citoplasma unidas a otras inhibitorias (I κ B). Estímulos extracelulares como citoquinas, lipopolisacáridos o factores de crecimiento activan a las proteínas IKK (inhibitor κ B kinase) que fosforilan I κ B. Esta fosforilación provoca su ubiquitinación y posterior degradación proteosómica, con la consiguiente liberación NF- κ B/Rel que a su vez son fosforilados y translocados al núcleo donde, bien sea solos o junto a otros factores, inducen la expresión de algunos genes involucrados en la respuesta inflamatoria (280,281) (fig. 6).

En la vía alternativa de activación de NF- κ B la estimulación de receptores extracelulares activan quinasas NIK (NF- κ B inducing kinase) que por medio de otras proteínas IKK fosforilan complejos p100/RelB, lo que conlleva a su ubiquitinación y posterior degradación proteosómica creando complejos p52/RelB que pueden translocarse al núcleo y modificar la transcripción genética (282).

Figura 6. Esquema general de NF-KB



1.2.4 APOPTOSIS

La apoptosis es un proceso fisiológico y sutil mediante el cual la célula activa una serie de mecanismos que desencadenan en última instancia su propia autodestrucción de una forma discreta y programada. Así, la apoptosis es equivalente a un suicidio celular controlado.

Se caracteriza por alteraciones de la membrana plasmática, condensación de la cromatina, reducción del tamaño celular, formación de poros en la membrana nuclear, y finalmente, fragmentación de la célula en los llamados cuerpos apoptóticos, en los que distintos componentes celulares están rodeados y sellados por una membrana plasmática que no permite que salga nada al exterior (283).

La principal diferencia con la muerte celular no programada o necrosis es que en la apoptosis no hay inflamación del tejido periférico porque no hay liberación del contenido celular al espacio extracelular, ya que los cuerpos apoptóticos formados, son fagocitados por células especializadas atraídas por la fosfatidilserina en su membrana plasmática (284–286).

En la apoptosis tienen lugar una serie de cambios bioquímicos y estructurales:

1) A nivel nuclear ocurren cambios tanto en la cromatina como en el citoesqueleto. Aunque la membrana nuclear permanece intacta pueden aparecer poros, posiblemente debido a digestión proteolítica de la lámina nuclear. Los cambios iniciales en la cromatina consisten en una condensación seguida de una marginación de la cromatina hacia la superficie interna de la membrana nuclear donde se forman núcleos densos. Al colapsamiento de la cromatina contribuye probablemente la digestión proteolítica de proteínas nucleares. Entre las proteínas del núcleo que se degradan se incluyen laminina, poli-ADP-ribosa polimerasa, topoisomerasa, actina globular, proteínas del aparato mitótico y la proteína U₁-70KDa.

2) La membrana celular también sufre alteraciones durante la apoptosis. Las células pierden el contacto con las células vecinas y comienzan a aparecer “ampollas” hasta que la célula adquiere una forma característica de “blebbing” previa a la formación de los cuerpos apoptóticos. Además, en los primeros estadios de la apoptosis la célula pierde la asimetría de los fosfolípidos de membrana y los residuos de fosfatidil serina, los cuales en una célula normal se encuentran en la cara interna de la membrana, se reorientan hacia la superficie externa de la membrana celular.

3) En cuanto a la mitocondria, aunque su estructura permanece intacta, durante la apoptosis hay una alteración del potencial de membrana debido a cambios en la distribución de los hidrogeniones y otros iones a través de la membrana mitocondrial. Estos cambios en el potencial de membrana ocurren muy tempranamente, antes de la fragmentación del DNA e incluso antes de la reorientación de los residuos de fosfatidil serina, y parecen estar mediados por canales transmembrana que regulan el potencial iónico de la célula.

En cualquier caso, el hecho más característico de la apoptosis es la fragmentación del DNA por lo que cuando se examina por electroforesis se observa una escalera de bandas múltiplos de 180-200 pares de bases.

Para que el proceso apoptótico se desencadene, es necesario que se activen en la célula una serie de mecanismos que en muchos casos van a estar controlados a nivel genético. Los mejores ejemplos de genes implicados en la apoptosis han sido definidos en invertebrados, sobre todo en *Caenorhabditis elegans* un nemátodo en el que se han realizado una gran parte de los estudios sobre este proceso y en el que se identificaron genes implicados en el inicio de la apoptosis (*eg-1*, *ces-1*, *ces-2*), en el proceso mismo de la apoptosis (*ced-3*, *ced-4*, *ced-9*), en la fagocitosis de las células apoptóticas (*ced-1*, *ced-2*, *ced-5*, *ced-6*, *ced-7*, *ced-8*, *ced-10*) y en la digestión y degradación de la célula

muerta (nuc-1). De todos ellos han resultado ser especialmente interesantes el ced-9 que es un supresor de la apoptosis y el ced-3 que es necesario para que se produzca la apoptosis. Estos genes se habían identificado en invertebrados, pero la apoptosis es un proceso conservado a lo largo de la evolución y se han identificado genes con funciones similares en mamíferos.

Tres tipos de proteínas parecen ser críticas en esta vía tan conservada: a) proteínas reguladoras, que pueden promover o reprimir la apoptosis; b) proteínas adaptadoras, que interaccionan tanto con los reguladores como con los efectores y que en ausencia de factores tróficos promueven la activación de los factores y; c) proteínas efectoras, que son una familia de proteasas de cisteína cuya activación conduce a la degradación de varios sustratos celulares y finalmente a la muerte celular.

Los estudios realizados en *C.elegans* permitieron la identificación de dos genes necesarios para la apoptosis en este nemátodo, ced-3 y ced-4. Posteriormente en mamíferos se identificó una proteína semejante a la codificada por ced-3, la enzima convertidora de IL-1 (ICE). ICE es una proteasa intracelular que hidroliza IL-1, a partir de un precursor grande. Pronto se identificaron nuevos miembros de la familia Ced-3/ICE. Todos se caracterizan por tener restos de cisteína en su centro activo y actuar hidrolizando proteínas diana en sitios específicos que contienen aspártico.

Se conocen como caspasas. El control de la apoptosis implica diferentes mecanismos y/o factores que inducen o reprimen la apoptosis. El balance entre inductores e inhibidores va a determinar si la célula vive o muere.

La apoptosis puede originarse por estímulos extracelulares (citoquinas, factores de crecimiento, óxido nítrico) o intracelulares (calor, radiación, hipoxia, infecciones virales, calcio) (fig. 7) y las señales pueden afectar positiva o negativamente a la apoptosis .

Aunque en el acoplamiento entre estímulo y el proceso final de apoptosis van a estar implicadas diferentes señales, en la mayor parte de los sistemas apoptóticos está implicada una actividad proteolítica.

Se puede considerar la proteólisis como un fenómeno común en todos los procesos apoptóticos, con diferentes proteasas implicadas y distintas proteínas como diana de esta actividad proteolítica. Los candidatos más importantes como mediadores finales de la apoptosis son las caspasas que como se mencionó son un grupo de proteasas de cisteína que juegan un papel esencial en la apoptosis actuando como moléculas de transducción y efectoras de las señales apoptóticas (289).

Existen dos vías fundamentales de activación de las caspasas. En la primera, usualmente denominada extrínseca, un estímulo actúa sobre un receptor de membrana como Fas o como TNF- α RI, que a través de FADD (Fas associated protein with death domain) o TRADD (TNF receptor associated death domain) activan caspasa 8 o caspasa 10 citoplasmática, que a su vez son capaces de activar por hidrólisis otras caspasas efectoras como caspasa 3, 6 o 7. Estas caspasas hidrolizan proteínas celulares sobre residuos aspartato resultando en los cambios morfológicos característicos de la apoptosis y la muerte celular.

La otra vía de activación, llamada intrínseca, ocurre a través de la liberación mitocondrial de citocromo C, el cual una vez en el citoplasma se une a la proteína Apaf-1 (apoptotic protease activating factor 1) activando caspasa 9 que también es capaz de activar caspasa 3, 6, 7 (290–292). El citocromo C se libera de la mitocondria a través de canales denominados MAC (mitochondrial apoptosis-induced channel) cuya formación está regulada por la familia de proteínas reguladora de la apoptosis Bcl2 (B cell lymphoma 2) (293). Esta familia de proteínas Bcl2 regula la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa y pueden ser proapoptótica formando poros en la

membrana como las proteínas BAD (Bcl2 associated death promoter) o BAX (Bcl2 associated X protein) y también puede ser antiapoptóticas como la proteína Bcl2, que evita la liberación mitocondrial de citocromo c (294).

Se han descrito otros mecanismos menos importantes de activación de caspasas como la liberación mitocondrial de moléculas como Smac/Diablo que se unen a inhibidores de caspasas efectoras como el XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) liberando de su inhibición a las caspasas 3, 7, 9 (295,296).

La apoptosis es un mecanismo natural esencial del crecimiento y remodelación de los tejidos, que en el pulmón tiene lugar de manera rutinaria.

En el daño pulmonar se produce una respuesta inflamatoria con aumento de los PMN, la permeabilidad vascular y la destrucción del epitelio alveolar, en el cual la apoptosis juega un papel importante (297).

La apoptosis en el daño pulmonar puede ser vista desde dos perspectivas, por un lado la inhibición de la apoptosis de los PMN aumentará la vida media y el número de estas células perpetuando la reacción proinflamatoria, mientras que por otro lado el aumento de la apoptosis en los pneumocitos dañará la barrera alveolo-capilar proceso fundamental en el daño pulmonar (298).

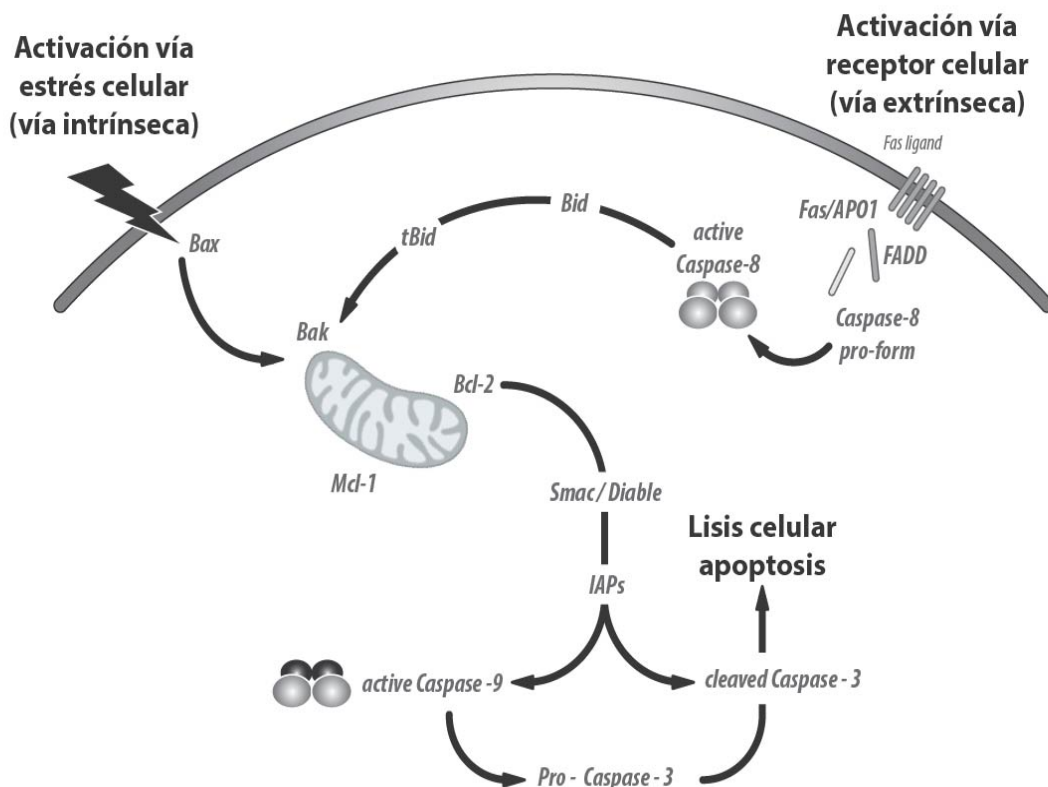
En pacientes con SDRA se ha observado una disminución de la apoptosis de polimorfonucleares en los LBA comparado con voluntarios sanos, asociado a una mayor concentración de citoquinas inhibitorias de la apoptosis (299). Esta disminución de la apoptosis de PMN ocurre predominantemente en etapas tempranas del daño pulmonar y aunque se sabe que el neutrófilo juega un papel clave no queda claro si la inhibición de su apoptosis es un proceso favorable o desfavorable en la evolución de la enfermedad (300). Sin embargo en modelos animales de daño pulmonar se ha observado que un aumento en la apoptosis de los neutrófilos mejora la mortalidad (301).

Por otro lado el daño en la barrera alveolo-capilar por una destrucción de los pneumocitos ha sido evidenciado en múltiples estudios en pacientes con SDRA y en modelos animales de daño pulmonar en los que se observa un aumento de la apoptosis en estas células que es un proceso determinante en este cuadro (302–306).

La mayoría de los mecanismos de activación de la apoptosis han sido implicados en este cuadro clínico, tanto la vía Fas/FasL como TNF- α o inhibidores solubles de la apoptosis de neutrófilos en forma de interleuquinas o factores estimuladores de colonias, lo cual pone de manifiesto el importante papel de la apoptosis en el SDRA, un mecanismo importante no sólo en el tejido pulmonar sino que puede afectar a órganos a distancia (307).

Por lo tanto, aunque ciertos estudios sugieren el beneficio de la inhibición de las vías de la apoptosis en el tratamiento del SDRA (307,308) su efectividad dependería de las células sobre las que actúe esta inhibición.

Figura 7. Apoptosis



1.2.5 METALOPROTEINASAS (MMP matrix metalloproteinases)

Son una familia de endopeptidasas dependientes del zinc para el proceso proteolítico. Son sintetizadas por una amplísima variedad de células en el organismo y son capaces de degradar todos los componentes de la matriz extracelular además de otros sustratos como citoquinas, factores de crecimiento y receptores de membrana, indicando su influencia en una amplia variedad de procesos fisiológicos como la organogénesis, homeostasis y reparación de tejidos (309). Sin embargo, su sobreexpresión causa una destrucción del tejido asociado a la inflamación en el daño pulmonar (310).

Las MMP al actuar sobre toda esa diversidad de sustratos no deben verse como simples destructoras del tejido extracelular, sino además como proteínas involucradas en la señalización intercelular.

Se han descrito 24 MMP en humanos y suelen clasificarse de acuerdo al sustrato específico al que degradan en colagenasas (MMP 1, 8, 13) gelatinasas (MMP 2, 9) estromelinasas (MMP 3, 10, 11) entre otras. Son sintetizadas como proenzimas y para su activación necesitan ser liberadas de un residuo de cisteína que interactúa con el zinc en el sitio activo impidiendo la unión con el sustrato (311).

Existen inhibidores naturales específicos TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) que se unen al zinc para impedir su función (312) y algunas tetraciclinas han demostrado también inhibir su efecto en múltiples estudios experimentales (313–315).

La inflamación que acompaña al daño pulmonar está caracterizada por una destrucción de la membrana basal, la cual se compone principalmente de colágeno tipo IV, elastina, proteoglicanos, y laminina. Dentro de las MMP se sabe que las gelatinasas (MMP 2, 9) son capaces de degradar el colágeno tipo IV, específico de la membrana basal, lo cual concuerda con estudios que han demostrado una concentración elevada de gelatinasas (MMP 2, 9) y de sus inhibidores naturales TIMP en LBA de pacientes con SDRA (316,317).

Otros autores han encontrado niveles elevados de MMP 1, 2, 3, 8, 9, 13 en el LBA de pacientes con SDRA y descrito que una elevación de MMP-1 y MMP-3 se asocia a un peor pronóstico de la enfermedad (312).

Clásicamente se ha relacionado a las MMP por el daño que ocasionan a la matriz extracelular, sin embargo estudios en animales que carecen de genes para la expresión de ciertas MMP, y desarrollan un cuadro de daño pulmonar de peor evolución que animales normales, sugieren un papel protector importante de las MMP a través de la degradación de citoquinas (318).

Mientras que algunos autores observan un papel protector de la MMP-8 en modelos animales de daño pulmonar (319,320), otros comprueban un papel perjudicial en modelos animales de VILI (321).

Lo mismo ocurre con MMP-9 en modelos experimentales de VILI, mientras que por una parte, en aquellos animales que carecen de genes para sintetizarla tienen más daño pulmonar que los que si pueden sintetizarla (318), otros autores demuestran un papel protector al inhibirla farmacológicamente causando menor inflamación mediada por neutrófilos (322).

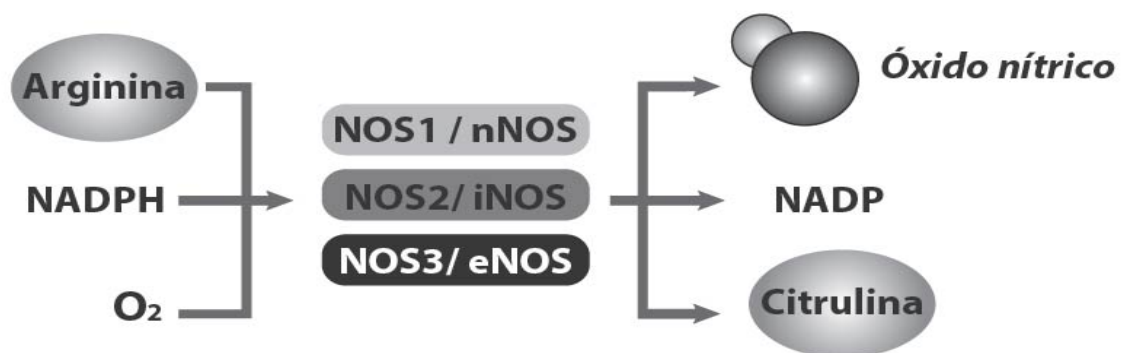
En resumen, la evidencia demuestra un papel importante de las MMP en la regulación de la respuesta inflamatoria del daño pulmonar, que debe ser comprendido con mayor exactitud y cuyo resultado final dependerá del sustrato sobre el cual actúen, lo cual sugiere que una inhibición farmacológica indiscriminada podría tener efectos deletéreos en el cuadro clínico.

1.2.6 ÓXIDO NÍTRICO (NO)

El óxido nítrico (NO) es un compuesto vasoactivo endógeno que contribuye entre otras acciones a la homeostasis vascular pulmonar.

Es producido a partir del aminoácido L-arginina a través de una reacción catalizada por una de las tres isoformas de la enzima NO sintetasa (NOS) que son la isoforma neuronal nNOS, la inducible iNOS y la endotelial eNOS, y las tres están presente en el tejido pulmonar (fig. 8).

Figura 8. Formación de NO

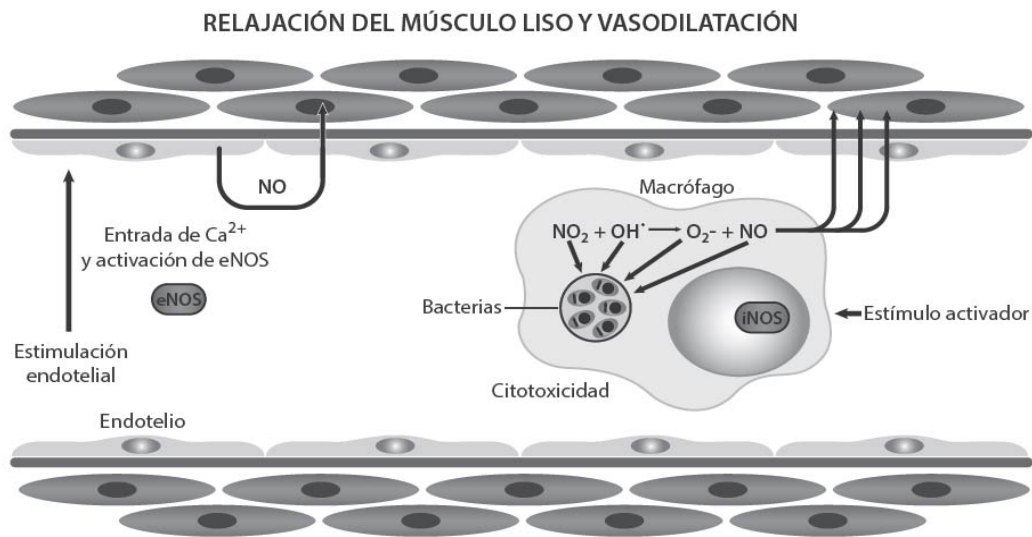


Las dos isoformas constitutivas eNOS y nNOS están reguladas por calcio y calmodulina y liberan pequeñas cantidades (nanomoles 10^{-9} M) de NO en picos de corta duración, que contribuye en el mantenimiento del tono vascular, inhibe la interacción del leucocito con el endotelio, la agregación plaquetaria y la proliferación de la célula

muscular lisa (323). La eNOS se expresa en todas las células endoteliales del organismo, y es la fuente fundamental de NO en la circulación pulmonar (324); al igual que la eNOS, la nNOS no es inducible, pero también se expresa en células epiteliales pulmonares.

Por otro lado, la iNOS se expresan en pequeñas cantidades en las células epiteliales y macrófagos de la vía aérea y en la célula muscular lisa pero puede inducirse bajo la influencia de citoquinas y endotoxinas (fig. 9).

Figura 9. Expresión de eNOS y de iNOS



El efecto principal del NO es la activación de guanilato ciclasa, lo cual aumenta la formación intracelular de guanosin monofosfato cíclico (cGMP), que a su vez produce una relajación de la musculatura lisa vascular y bronquial (325).

Para evaluar el papel del NO en la regulación del tono vascular pulmonar, se han realizado diversos estudios, unos utilizando antagonistas competitivos no selectivos de la NOS y otros con animales que carecen de genes para expresar las diferentes isoformas de NOS.

Con la inhibición farmacológica de la NOS se observa que el NO proviene fundamentalmente de la eNOS y que juega un papel importante en la homeostasis de la

circulación arterial sistémica y en menor medida de la circulación pulmonar en condiciones basales.

Sin embargo, este efecto sobre el tono vascular pulmonar se vuelve particularmente importante en condiciones de hipoxia (326–329), lo que trae como consecuencia un incremento de las presiones pulmonares cuando se produce una disminución de la concentración de NO bien sea por daño endotelial o por un aumento de la producción de especies reactivas (330).

Paradójicamente, el exceso de NO producido en cantidades elevadas (micromoles 10^{-6} M) por un aumento en la expresión de iNOS que se asocia a estímulos inflamatorios como el SDRA pueden agravar el cuadro clínico (331,332). Aunque se desconoce el mecanismo exacto por el cual esto ocurre, probablemente esté en relación con la formación de grandes cantidades de especies reactivas que dañaran los diferentes tipos celulares (83,333).

En este sentido, diversos estudios han demostrado un aumento en los niveles de mRNA iNOS con la inhalación de agentes irritantes (334,335). Además, en animales modificados que no poseen genes para iNOS se encuentran protegidos ante el daño pulmonar (336).

En el daño pulmonar por isquemia reperusión, el NO derivado de la eNOS ayuda a mantener las resistencias vasculares bajas, mientras que la producción por la iNOS se asocia a mayor formación de RNS y disfunción vascular (337).

1.2.7 EDEMA PULMONAR

Como hemos mencionado anteriormente el SDRA es una forma de edema pulmonar no cardiogénico, que resulta del daño tisular pulmonar secundario a una respuesta inflamatoria exacerbada.

Independientemente de la etiología del cuadro bien sean fenómenos locales (neumonías, aspiración, traumatismo, embolismo, etc.) o sistémicos (pancreatitis, quemados, hipoperfusión, transfusiones sanguíneas, sepsis), estos pacientes comparten daños anatómicos y fisiológicos comunes con el patrón de insuficiencia respiratoria característica del cuadro.

La respuesta inflamatoria que acompaña al cuadro es consecuencia de la activación y quimiotaxis de neutrófilos que liberan citoquinas y radicales libres, de la activación del complemento, la coagulación, las vías de ciclooxigenasa, lipooxigenasa y óxido nítrico. Todo lo cual ocasiona un daño endotelial y epitelial, siendo este daño, y no el aumento de la presión hidrostática, lo que produce el exudado o edema alveolar característico que lógicamente se acompaña de hipoxemia y disminución de la complianza pulmonar.

Por otro lado, la cirugía de resección pulmonar somete al pulmón y su lecho vascular a un número de agresiones que elevan el riesgo de sufrir daño pulmonar (98,338). La posición por efecto gravitacional y la VUP por VPH redistribuyen el flujo sanguíneo hacia el pulmón dependiente, lo que expone a sus células endoteliales a una mayor presión transvascular intraoperatoria que se suma al daño causado por la ventilación mecánica en ese pulmón. Mientras, en el pulmón proclive el endotelio expuesto al daño por isquemia-reperfusión activará las vías de producción de ROS y NO viéndose también afectado.

Los marcadores de estrés oxidativo y de daño pulmonar son mayores en pacientes a los que se realiza neumonectomía, modestas en lobectomías y leves en segmentectomías o cuñas (339), lo cual refuerza entre otras cosas, la importancia del aumento del flujo en el tejido pulmonar residual que puede inducir o agravar un daño pulmonar subyacente (338).

Mientras que en la práctica clínica la medición del agua extravascular pulmonar (ELWI) ha sido utilizado para medir precozmente el daño pulmonar (340,341), en animales la medición del edema pulmonar ha sido tradicionalmente considerada como un índice de daño pulmonar (342).

1.3 ANESTÉSICOS LOCALES (AL)

Los anestésicos locales (AL) han sido utilizados clásicamente en medicina como antiarrítmicos y bloqueantes de la conducción nerviosa por su efecto sobre los canales de sodio. Sin embargo, en las últimas décadas el uso clínico de los AL se ha venido ampliando gracias a su efecto antiinflamatorio y ha sido utilizado en variedad de patologías para atenuar la respuesta inflamatoria (343–346).

A pesar de la abundante evidencia sobre el efecto antiinflamatorio de los AL se desconoce el mecanismo exacto de su acción a nivel molecular, sin embargo, se reconoce que este mecanismo es independiente de los canales de sodio ya que actúa sobre células que carecen de estos canales además que el uso de bloqueantes específicos de canales de sodio no impide su efecto (347).

Se han descrito efectos inhibitorios sobre la producción de citoquinas, de especies reactivas de oxígeno, sobre la migración y activación de los polimorfonucleares y sobre la apoptosis, que explican en conjunto su efecto sobre el sistema inmunológico.

1.3.1 EFECTOS DE LOS AL DE SOBRE LA RESPUESTA CELULAR EN LA INFLAMACIÓN

La interacción del PMN con el endotelio juega un papel fundamental en la respuesta inflamatoria, la adherencia del neutrófilo activado al endotelio representa uno de los pasos clave en el proceso, que se acompaña de un aumento de la permeabilidad vascular con incremento de la migración de leucocitos y su acumulación en el tejido (348).

Estudios en modelos animales de *shock* inducido por lipopolisacáridos (LPS) demuestran que una menor adherencia y menor número de leucocitos activados en los animales se asocia a una mayor supervivencia al final del experimento (349). Otros autores también han demostrado en modelos animales, que aquellos que carecen de genes para sintetizar moléculas de adhesión ICAM-1, se encuentran protegidos frente a dosis letales de toxinas (350). De lo que se deduce, que la disminución de la activación y adhesión leucocitaria pudiera disminuir el daño orgánico en estados de *shock*.

La lidocaína tiene varios efectos inhibitorios en la función del PMN. Disminuye *in vivo* su adhesión al endotelio de manera dosis dependiente (351–354) mientras que *in vitro* los AL disminuyen la adhesión del leucocito a superficies no biológicas en un proceso que puede ser reversible tras el lavado del AL (355,356).

La lidocaína también tiene un efecto inhibitor en el proceso de migración de los leucocitos demostrado por varios autores, los cuales observan una disminución en la movilidad del PMN, así como en la cantidad de leucocitos acumulados en la zona inflamada, que no es explicable por una disminución en las concentraciones de las citoquinas quimioatrayentes (353,357,358), y que probablemente sea consecuencia de una interferencia con los procesos intracelulares del polimorfonuclear mediados por calcio y alteraciones con el citoesqueleto (359–363). Aunque un efecto contribuyente de

los canales de potasio mitocondriales sensible a ATP no puede ser descartado (364–366).

También se han documentado *in vitro* e *in vivo* un papel inhibidor de los AL sobre la generación de especies reactivas de oxígeno (347,367–371). Se trata de un efecto dosis dependiente (372,373), que se ha confirmado en pacientes diabéticos y con enfermedad coronaria que recibieron perfusión intravenosa de AL (374,375). Además, inhiben la respuesta natural del leucocito a sobreexpresar moléculas de adhesión (352), la formación de radicales libres (353,376) y la liberación anión superóxido (375). Por otro lado disminuye la producción de leucotrienos (357) y prostaglandinas (377).

Estudios en modelos animales de sepsis han demostrado que el uso de lidocaína en perfusión IV disminuye la migración de neutrófilos al tejido pulmonar que ocurre secundaria a la endotoxemia (378). Mientras, en humanos, el uso de lidocaína IV en un estudio clínico de cirugía abdominal ha demostrado disminuir la expresión de integrinas y selectinas indispensables para el reclutamiento de leucocitos PMN hacia el espacio intersticial (379).

1.3.2 EFECTO DE LOS AL SOBRE EL LA SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE CITOQUINAS

Las citoquinas son las principales reguladoras de la respuesta inflamatoria la cual se caracteriza por un aumento de la permeabilidad capilar y reclutamiento de células inflamatorias. Esta respuesta es beneficiosa cuando las citoquinas se producen en cantidades adecuadas, mientras se controla el agente causal, pero deletérea e incluso fatal si se producen en exceso como ocurre en el *shock* séptico y fallo multiorgánico.

Muchas citoquinas son inducidas por células inflamatorias o por estrés oxidativo (380,381) y el hecho de que las citoquinas puedan atraer más células, estimular la

liberación de más citoquinas e incrementar el estrés oxidativo, puede perpetuar los cuadros inflamatorios.

En pacientes con sepsis, los niveles plasmáticos de citoquinas se relacionan directamente con la mortalidad a los 30 días (382). Lo mismo ocurre en pacientes con SDRA en el que el grado de respuesta inflamatoria se relaciona con la mortalidad de forma que los pacientes con mayor expresión de citoquinas y/o persistencia elevada de citoquinas tienen una mortalidad mayor que los pacientes con menor concentración de citoquinas y más rápida disminución de sus niveles plasmáticos (197).

En modelos animales de sepsis, la administración intravenosa (IV) de lidocaína disminuye las concentraciones plasmáticas de IL-8 e IL-6, mejora los parámetros hemodinámicos y disminuye la mortalidad (378). En concordancia con ello, otros estudios han demostrado el efecto depresor cardiovascular de algunas citoquinas (383,384).

En humanos, tres estudios clínicos prospectivos randomizados en cirugía abdominal demuestran que el uso de lidocaína en perfusión IV disminuye de forma significativa la producción de IL-6, IL-8 al final de la cirugía y durante las primeras 72 horas de postoperatorio, lo cual se asocia con una recuperación intestinal más temprana (379,385,386).

In vitro, los AL han demostrado inhibir de forma dosis dependiente la liberación leucocitaria de IL-1 β y de LTB₄ (357). Lo mismo, ha sido visto en células epiteliales intestinales, en las que los AL disminuyen la expresión de IL-8 y de IL-1 β (387,388).

Los mecanismo propuestos para justificar estos efectos pueden involucrar: la inhibición de la vía del NF- κ β o la actividad de proteínas fosforiladoras que regulan las funciones celulares (366,389–393). La lidocaína también es capaz de disminuir la expresión de mRNA de MCP-1 en cultivos celulares estimulados con LPS (394).

Además la lidocaína es capaz de estimular la secreción de mediadores antiinflamatorios como IL-1 RA (387).

1.3.3 EFECTOS DE LOS AL SOBRE LA APOPTOSIS

Ante la presencia de factores patogénicos como los que caracterizan los estados de *shock*, coagulopatía, SDRA, sepsis o fallo multiorgánico, se produce la liberación de cantidades importantes de citoquinas proinflamatorias las cuales directa o indirectamente producen cambios hemodinámicos e inflamatorios que causan daño sobre los diversos órganos. Entre otras citoquinas, la liberación de TNF- α o FasL activa a través de receptores de membrana a las células epiteliales promoviendo procesos apoptóticos en los diferentes tejidos (395).

Múltiples modelos animales de *shock* séptico y daño pulmonar resaltan la importancia de la apoptosis de células endoteliales y epiteliales como mecanismo contribuyente en el daño orgánico (305,396–399). Al igual que lo que ocurre en pacientes con SDRA, en los que se ha observado un aumento de la apoptosis de células epiteliales y de sus mediadores en los LBA (298,304).

Los AL son capaces de inducir la apoptosis por mecanismos moleculares todavía no definidos, este efecto se ha observado en células neuronales y linfocíticas cuando se evaluaba el efecto neurotóxico de los AL, pero también sobre células tumorales del sistema nervioso (400–404). Otros estudios sobre cultivos de células renales normales, indican que los AL promueven la apoptosis de forma dosis dependiente, lo cual sugiere un posible efecto nefrotóxico de los AL (405,406). Sobre células corneales de conejo, se observa también un efecto proapoptótico a tener en cuenta en las inyecciones intracamerales de AL (407). En condrocitos animales y humanos se observa el mismo

fenómeno proapoptótico con los diferentes AL y de forma concentración dependiente, lo cual ha alertado sobre su uso rutinario en la patología articular (408,409). En células tumorales de mama la lidocaína promueve de forma dosis dependiente y a concentraciones clínicamente relevantes la activación de genes supresores tumorales (410).

Existen otras evidencias que parecen indicar que el mecanismo de acción proapoptótico de los AL implica la activación de la vía intrínseca y no de los receptores de membrana (403), aunque el mecanismo exacto de todo el proceso se desconoce.

En contrapartida, otros autores demuestran que la lidocaína disminuye la apoptosis neuronal en el área de penumbra en un modelo de isquemia cerebral en ratas (411). A su vez, también se ha observado un efecto antiapoptótico protector contra el daño isquemia-reperfusión en células miocárdicas de ratones (412). Estos efectos antiapoptóticos están mediados probablemente por un mecanismo que involucra la vía extrínseca que incluyen la liberación de mediadores de la apoptosis (TNF- α , Fas) así como la interacción con sus receptores de membrana.

En resumen, la evidencia sugiere que existen dos efectos contrapuestos de la lidocaína y otros AL sobre la apoptosis y que probablemente esté en relación con la situación celular sobre la que se aplique. Mientras que en un ambiente oxidativo ejerce un papel predominantemente antiapoptótico, en otros ambientes parece observarse fundamentalmente un efecto proapoptótico.

1.3.4 EFECTO DE LOS AL SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)

Mientras el NO sintetizado por las isoformas constitutivas de las NOS contribuye en la homeostasis tanto del tono vascular como de otras funciones celulares en los diferentes tejidos, su sobreproducción por la isoforma inducible de la NOS

favorece la formación de especies reactivas que pueden dañar DNA, proteínas y lípidos celulares de los diferentes órganos; lo cual parece agravar los cuadros patológicos asociados a su formación (334,335,413). En base a estos hechos se cree que la inhibición de la iNOS y el mantenimiento del correcto funcionamiento de la eNOS se asocian a una mejoría clínica en los cuadros de sepsis (414,415).

Poco se ha estudiado sobre el efecto de los anestésicos locales sobre la producción de NO. En cultivos celulares, la lidocaína ha demostrado inhibir la actividad de iNOS, empeorar la estabilidad del mRNA del iNOS y acelerar su degradación, mecanismos que logran disminuir de forma dosis dependiente la concentración de NO en células estimuladas con LPS, lo cual ocurre por un mecanismo desconocido a nivel molecular (416) pero que puede involucrar canales de sodio voltaje-dependientes que actúen disminuyendo la vía de la proteína MAPK p38 que a su vez inhibe la formación de NF- κ B y de iNOS (417), o bien disminuyendo la captación celular de L-arginina (aminoácido precursor del NO) (418).

1.3.5 USO PLEIOTRÓPICO DE LOS ANESTÉSICOS LOCALES

Los AL se han utilizado en la práctica clínica por su efecto inmunomodulador en varias patologías entre las que se encuentran: la cistitis intersticial, un cuadro poco frecuente, tradicionalmente definido como una inflamación crónica estéril de la vejiga de etiología indeterminada que es probablemente multifactorial y que continúa sin tratamiento definitivo, pero sobre el cual hay evidencia de mejoría con la instilación vesical de AL (344,419–422).

Aunque no existen estudios prospectivos aleatorizados, los AL han sido utilizados también en la colitis ulcerosa, una variedad de enfermedad inflamatoria

intestinal de etiología desconocida pero de mayor incidencia que la cistitis intersticial. Se ha observado que el tratamiento de los brotes de colitis ulcerosa con AL en diferentes esquemas de tratamiento (343,423,424), atenúa la hiperestimulación simpática que causa vasoconstricción e isquemia de la mucosa y mejora el cuadro clínico. Por otro lado, también se observa en la mucosa intestinal un elevado número de neutrófilos que liberan citoquinas sobre los que pueden actuar los AL, y explicar en parte su efecto beneficioso en esta patología.

Por otra lado, en cirugía de revascularización coronaria sin circulación extracorpórea, se ha observado una disminución de las enzimas de daño miocárdico al administrar un bolo de lidocaína de 1,5 mg/Kg en la inducción anestésica seguido de una perfusión de 2 mg/Kg/h, presuntamente secundario al efecto protector de la lidocaína frente al daño por isquemia-reperfusión (425). Resultados similares se han descrito en cirugía cardíaca infantil en los que se utilizó lidocaína junto a adenosina en la solución para la cardioplejia en cirugía con bypass cardiopulmonar (426).

Paralelamente, existe cierta evidencia clínica del uso de los AL por su efecto inmunomodulador en otros contextos como el cáncer. Es extensa la literatura que relaciona y subraya el papel que juegan los mediadores inflamatorios en la formación y progresión del cáncer (427,428). Se conoce que los AL actúan sobre mediadores del cáncer como son: las células natural killer (429), citoquinas quimioatrayentes, selectinas y la inflamación crónica; que están relacionadas con la extensión tumoral y formación de metástasis (430,431). Cada día se conoce más en detalle la relación entre estos procesos y los mediadores inflamatorios dejando obviamente un campo de estudio a los agentes antiinflamatorios en la terapia contra el cáncer (432–434).

Aunque no existen estudios aleatorizados doble ciego que demuestren un efecto beneficioso de los AL en la prevención de la recurrencia del cáncer, múltiples estudios

en animales y humanos han demostrado un efecto beneficioso en su uso. La anestesia general combinada con bloqueo espinal reduce la formación de metástasis en ratas inoculadas con células tumorales (435). En humanos, estudios retrospectivos sugieren que la anestesia general combinada con una técnica regional disminuye la recurrencia del cáncer de mama (436). Actualmente hay en desarrollo un estudio multicéntrico prospectivo aleatorizado que busca evaluar la recurrencia del cáncer de mama en pacientes con anestesia general y analgesia convencional intravenosa comparado con pacientes con bloqueos paravertebrales y epidurales torácicos con sedación o anestesia superficial (437). En estudios retrospectivos de pacientes con cáncer de próstata sometidos a cirugía existe evidencia contradictoria respecto a la utilidad del bloqueo regional para disminuir la recurrencia de la enfermedad (438–440). En varios de estos estudios se menciona como posible mecanismo de acción la disminución de la inmunodepresión secundaria al acto quirúrgico, bien sea por menor dosis de los fármacos anestésicos con efecto inmunodepresor o por menor respuesta neuroendocrina inmunodepresora secundaria al dolor que puede controlarse mejor con bloqueos regionales. Otro posible mecanismo de acción consistiría en su efecto sobre la respuesta inflamatoria general o sobre la apoptosis de las células tumorales secundaria a la absorción sistémica de los AL.

Cada vez con más frecuencia se estudia la respuesta inmunológica frente los daños controlados como lo son la cirugía o la ventilación mecánica y se infiere que a menor respuesta inmunológica tendrá lugar una menor agresión orgánica y por lo tanto una mejor evolución clínica. En este sentido, se han realizado estudios principalmente en cirugía abdominal tanto abierta como laparoscópica que evalúan el efecto de una perfusión intravenosa continua (PCIV) de lidocaína, y observan una menor liberación de citoquinas, menor dolor postoperatorio y alta hospitalaria más temprana en los

pacientes que reciben el AL (441). Este efecto se obtiene a diferentes dosis de lidocaína que van desde 1 a 3 mg/kg/h generalmente precedido de un bolo inicial de 1-2 mg/kg y manteniendo la perfusión intravenosa durante tiempos variables que van desde su uso solo durante el intraoperatorio hasta, en otros estudios, las primeras 24h postoperatorias.

Tanto en modelos animales como en humanos el uso de AL en quemaduras de espesor parcial profundo ha demostrado disminuir la extravasación de albúmina, mejorar el edema y la perfusión tisular medida por doppler; este efecto se obtiene tanto con el uso tópico de lidocaína al 5% como con el uso sistémico en PCIV a 1 y/o 2 mg/kg/h así como si se usa antes o después de la lesión (345,442–444).

En modelos animales de *shock* séptico por endotoxemia, la perfusión de AL a diferentes dosis ha demostrado disminuir la mortalidad de forma independiente a los valores hemodinámicos (445–447). En otros modelos de peritonitis y de isquemia intestinal la aplicación de bupivacaina y de lidocaína tanto tópica como sistémica disminuye la inflamación, la extravasación de líquidos y albumina lo cual sugiere un menor daño endotelial; también se observa con los AL un menor daño en la barrera mucosa intestinal lo que conlleva a una menor translocación bacteriana (448–450).

1.3.6 ANESTÉSICOS LOCALES Y SDRA

Múltiples estudios han evaluado el papel que juegan los anestésicos locales sobre el cuadro SDRA.

En un modelo de daño pulmonar producido por endotoxina de *E. coli* en conejos la administración de un bolo de lidocaína de 2 mg/kg, previa a la administración de endotoxina, seguido de una perfusión continua de lidocaína 2 mg/Kg/h disminuyó el edema pulmonar, el conteo leucocitario y la concentración de albúmina en el LBA

mientras que aumenta la PaO₂ (451). De igual forma, otros autores han comprobado que el tratamiento temprano, a los 10 minutos posterior a la administración de la endotoxina, mejora la complianza, el edema pulmonar, la PaO₂ y la concentración de albúmina en el LBA (452).

Lo mismo parece ocurrir en el daño pulmonar causado por instilación intratraqueal de ácido clorhídrico, tanto en el pre-tratamiento como en el postratamiento precoz con lidocaína (453). Presumiblemente por su efecto inhibitor sobre la adhesión leucocitaria, así como la disminución en aniones superóxido y citoquinas.

En un modelo de el daño pulmonar en ratas causado por endotoxina de *E. coli* que evalúa el efecto de la ropivacaina se observó, tanto *in vitro* (en células epiteliales alveolares y en células endoteliales pulmonares) como *in vivo*, una disminución de la respuesta inflamatoria, probablemente secundaria a una menor expresión de ICAM, menor quimiotaxis de neutrófilos y menor producción de radicales libres (454).

Mientras, en un modelo de daño causado por hiperoxia en conejos, con el uso de AL se ha observado una disminución de los mediadores inflamatorios en el LBA, del edema y daño tisular pulmonar (455).

Debido a la alta tasa de SDRA que acompaña a la pancreatitis aguda se ha estudiado el efecto de la lidocaína en bolo seguido de perfusión continua en conejos con el daño pulmonar inducido con tripsina y fosfolipasa A₂, y se observa una mejoría tanto en la PaO₂ como en el edema, complianza y recuento leucocitario en pulmón (456). Esto sugiere un efecto inmunomodulador beneficioso expresado no solamente en cuanto a la disminución de mediadores y efectores inmunológicos sino en parámetros clínicos como la oxigenación arterial y la diferencia alveolo arterial de O₂.

En otro modelo de el daño pulmonar inducido por tiourea IV se observa un menor edema pulmonar en ratas previamente tratados con lidocaína intraperitoneal (457), así como en el daño pulmonar causado por N-formil-l-leucin-metionil-l-fenilalanina (FMLP); tanto los AL de corta como de larga duración disminuyeron el edema y el daño pulmonar (458,459). Lo mismo ocurre en modelos animales de ALI por daño isquemia-reperfusión en los que la lidocaína disminuye los mediadores inflamatorios en LBA, mejora el edema pulmonar y el intercambio gaseoso (460–462).

Por tanto sin importar el modelo de daño pulmonar utilizado los AL parecen tener un papel protector si se utilizan antes o en etapas tempranas de su aparición (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos de los AL sobre el daño pulmonar

Referencia	Modelo de ALI utilizado	Tipo de perfusión de AL	Resultados con el AL
Mikawa et al 1994 (451)	Endotoxina IV de E.coli en 60 minutos	2mg/Kg de lidocaína 10 minutos antes de la endotoxina seguidos de 2mg/Kg/h y se mantiene hasta sacrificar al animal Concentración de lidocaína en sangre 1.3-2.2µg/ml	Disminución del número de leucocitos, albumina, C3a, C5a del LBA. Evita la disminución de leucocitos y plaquetas en sangre periférica. Disminuye el daño histológico pulmonar. Mejora la PaO ₂ , el edema y la complianza pulmonar
Nishina et al 1995 (452)	Endotoxina IV de E.coli en 60 minutos	2mg/Kg de lidocaína seguido de 2mg/Kg/h 10 minutos después de la endotoxina y se mantiene hasta sacrificar al animal Concentración de lidocaína en sangre 1.2-2.3µg/ml	Disminuye la albúmina pero no de citoquinas ni leucocitos en el LBA. Evita la trombocitopenia pero no la leucopenia. Disminuye el daño histológico pulmonar. Mejora la PaO ₂ , la AaDO ₂ , el edema y la complianza pulmonar
Nishina et al 1998 (453)	Instilación intratraqueal de ácido clorhídrico (HCL)	2mg/Kg de lidocaína seguido de 2mg/Kg/h 10 minutos antes , 10 y 30 minutos después de la instilación de HCL y se mantiene hasta sacrificar al animal Concentración de lidocaína en sangre de 1.2-2.5µg/ml	Disminuye el número de leucocitos, IL-6, IL-8, TxB ₂ y albúmina del LBA. El pre-tratamiento y el tratamiento a los 10 minutos (pero no a los 30) minutos disminuye la elevación plasmática de IL-6, el daño tisular, evita la leucopenia, mejora la PaO ₂ , el edema y la complianza pulmonar
Blumenthal et al 2006 (454)	Instilación intratraqueal de lipopolisacárido de E.coli + activación del cultivo celular con lipopolisacárido de E.coli	300 µl de ropivacaina 1mM intravenosa o intratraqueal junto al lipopolisacárido + concentraciones crecientes de ropivacaina 100, 10, 1 µM en cultivos celulares	Con el AL tanto IV como intratraqueal, disminuye la concentración de TNF-α, MCP-1, CINC-1, de albúmina y leucocitos en LBA. Ropivacaina disminuye el mRNA de ICAM-1, la adherencia de neutrófilos a los cultivos y el daño celular causado por los mismos

Referencia	Modelo de ALI utilizado	Tipo de perfusión de AL	Resultados con el AL
Takao et al 1996 (455)	Hiperoxia	2mg/Kg de lidocaína seguido de 2mg/Kg/h junto con oxígeno 100% durante 36h Lidocaína sangre 1.4-2.5µg/ml	Disminución del número de leucocitos, albumina, C3a, C5a, TNF- α e IL-1 β aunque no de TxB ₂ del LBA. Disminuye el edema
Kiyonari et al 2000 (456)	Fosfolipasa A ₂ y tripsina IV en 4 horas	2mg/Kg de lidocaína 10 minutos antes de las enzimas seguidos de 2mg/Kg/h y se mantiene hasta sacrificar al animal Concentraciones de lidocaína entre 1.2-2.6µg/ml	No disminuye las concentraciones C3a y C5a en LBA. Evita la disminución de neutrófilos y plaquetas en sangre periférica. Disminuye el daño tisular. Mejora la PaO ₂ , AaDO ₂ , el edema y la complianza pulmonar
Stelzner 1987(457)	Tiourea IV	4mg/kg de lidocaína antes de la tiourea y cada hora durante todo el procedimiento. Concentración de lidocaína en sangre de 3-6µM	Disminuyen las especies reactivas de oxígeno en neutrófilos aislados. Disminuye el edema pulmonar
Konrad et al 2006 (458)	N-formil-l-leucin-metionil-l-fenilalanina (FMLP), un análogo de membrana bacteriana capaz de activar neutrófilos, en la preoperación pulmonar	Concentraciones decrecientes de lidocaína y mepivacaína desde 10 ⁻² a 10 ⁻⁷ mg/Kg 10 minutos antes de administrar FMLP	Disminuye el número de leucocitos, la concentración de endotelina-1 pero no de TxB ₂ . Disminuye el edema y el daño histológico pulmonar
Schley et al 2009 (459)	N-formil-l-leucin-metionil-l-fenilalanina (FMLP), un análogo de membrana bacteriana capaz de activar neutrófilos, en la preparación pulmonar	Concentraciones decrecientes de bupivacaína, ropivacaína y procaína desde 10 ⁻² a 10 ⁻⁷ mg/Kg 10 minutos antes de administrar FMLP	Disminuye el número de leucocitos, la concentración de endotelina-1 (excepto la procaína), pero no se modifica la de TxB ₂ . Disminuye el edema y el daño histológico pulmonar
Das et al 2003 (460)	Isquemia-Reperfusión	5mg/Kg de lidocaína, 10 mg/Kg quinidina y 20 mg/Kg procainamida antes de la agresión	Disminuye el edema pulmonar y la presión en la vía aérea. Disminuye la concentración de TxB ₂ y PGF _{1α}
Das et al 1994 (461)	Isquemia-Reperfusión	5mg/Kg de lidocaína antes de la agresión	Disminuye el edema pulmonar y la presión en la vía aérea.
Schmid et al 1996 (462)	Trasplante pulmonar. Isquemia-Reperfusión	Lidocaína 20µg/ml en la solución de lavado del órgano. 4mg/Kg de lidocaína seguido de 4mg/Kg/h en el receptor antes del trasplante pulmonar. Concentraciones de lidocaína entre 3.6-4.5µg/ml	Disminuye los neutrófilos (y expresión de CD11b) y la concentración de MPO del LBA. Disminuye el edema pulmonar y mejora el intercambio gaseoso pulmonar

1.3.7 COMPLICACIONES DEL USO INTRAVENOSO DE ANESTÉSICOS

LOCALES

Existe una amplia experiencia con el uso de lidocaína intravenosa en la profilaxis y tratamiento de las arritmias ventriculares, aunque actualmente ha caído en desuso ante la posibilidad de que en la profilaxis primaria de las arritmias postinfarto pueda aumentar la insuficiencia cardíaca congestiva y la mortalidad (463,464). Las guías clínicas actuales en el manejo del infarto no recomiendan su uso rutinario por la falta de evidencia científica al respecto (465), mientras que algunos autores defienden su uso sistemático en estos casos (466).

A pesar de su gran margen de seguridad, otro problema clínico potencial de su uso, es la toxicidad sistémica de la lidocaína, que puede aparecer desde concentraciones plasmáticas por encima de 5µg/ml. Estos efectos tóxicos van desde alteraciones en el sistema nervioso central hasta alteraciones hemodinámicas secundarias a vasodilatación periférica, bradicardia o arritmias letales con concentraciones más elevadas del AL (467).

En este sentido la lidocaína es el AL más seguro, al compararlo con la bupivacaína, levo-bupivacaína, o la ropivacaína son necesarias concentraciones plasmáticas mucho mayores para que ocurra un colapso cardiovascular; y a diferencia de lo que ocurre con estos, la lidocaína produce progresivamente hipotensión, bradicardia e hipoxia antes del colapso cardíaco mientras que con el resto de los AL el colapso cardiovascular suele ser súbito y secundario a arritmias ventriculares que conllevan a una difícil resucitación cardiopulmonar (468,469). Al margen de esto, existen descripciones aisladas de casos que asocian el uso de lidocaína con aparición de SDRA (403–405).

Todos los estudios clínicos que utilizan perfusión IV de lidocaína y reportan su concentración plasmática, han demostrado mantener concentraciones inferiores a 5 µg/ml incluso al mantener perfusiones hasta de 30 µg/kg/min durante 48 horas (441).

Otra preocupación sería la interferencia de los AL sobre la respuesta inmunológica y se plantea el potencial efecto adverso de incrementar el riesgo de infecciones, cuestión que merece mayor estudio. Sin embargo, se han descrito tanto *in vivo* como *in vitro* propiedades antimicrobianas de los AL (473–476), no interfiriendo con la activación de los neutrófilos (368). En estudios animales de endotoxemia ha demostrado disminuir la mortalidad de forma independiente a la situación hemodinámica (446).

El metabolismo de la lidocaína es fundamentalmente hepático por lo que los pacientes con disfunción hepática o con flujo hepático disminuido serán particularmente susceptibles a estas complicaciones.

Se han realizado múltiples estudios en animales para evaluar el efecto electrocardiográfico y hemodinámico del uso de altas dosis de AL IV. Debido al efecto de los AL sobre el SNC estos deben realizarse en animales anestesiados porque si no el inicio de las convulsiones provocan taquicardia e hipertensión (477) que alteran el efecto real de los AL sobre el sistema cardiovascular. En animales anestesiados, dosis elevadas de AL pueden producir inotropismo y cronotropismo negativo con leve disminución de la presión arterial, ensanchamiento del QRS y arritmias ventriculares (469,478).

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

La ventilación unipulmonar para la cirugía de resección pulmonar se asocia a una respuesta inflamatoria pulmonar y sistémica debido a la liberación de mediadores de la inflamación al torrente sanguíneo, y esta respuesta inflamatoria puede ser atenuada mediante nuevas estrategias terapéuticas. La administración del anestésico local lidocaína puede modular la respuesta inflamatoria local y sistémica del daño pulmonar cuando el pulmón es sometido a una ventilación unipulmonar para cirugía de resección pulmonar.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo, es investigar el posible papel de los mediadores proinflamatorios en el daño pulmonar secundario a la cirugía de resección con ventilación unipulmonar, y si este daño podría estar mediado, al menos en parte, por modificaciones en la expresión de estos mediadores y de la apoptosis en el período perioperatorio.

2.2.2 OBJETIVOS CONCRETOS

- 1) Evaluar el efecto hemodinámico y gasométrico producido por la cirugía de resección pulmonar durante el intraoperatorio y a las 24 horas siguientes.
- 2) Determinar la expresión de mediadores proinflamatorios secundaria a la ventilación unipulmonar.
- 3) Determinar si estos cambios van acompañados por modificaciones en la muerte celular por apoptosis.
- 4) Determinar el efecto del anestésicos local, lidocaína, sobre la liberación de mediadores proinflamatorios y/o apoptóticos.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:

Los experimentos se realizaron en 18 cerdos de la raza mini-pig de ambos sexos.

La raza mini-pig se crea durante la década 1960-1970 en condiciones de laboratorio por medio de la mezcla de otras razas. Lo cual se realiza a la vez en USA, Rusia, Japón, Taiwan, Alemania, Australia buscando un animal con mejores condiciones para la investigación como un menor peso y tamaño, un estado de salud bien caracterizado, mayor limpieza y/o temperamento adecuado para su manipulación.

3.2 MATERIAL FUNGIBLE Y SISTEMA DE MONITORIZACIÓN EMPLEADO

- Tubo endotraqueal: Se utilizó para la intubación orotraqueal tubo estándar del nº 6-7 mm dependiendo del peso del espécimen modelo Murphy con balón.
- Introdutores vasculares: Se emplean para canalizar las arteria y vena femoral (7 Fr respectivamente), mediante técnica de Seldinger.
- Cateter venoso central trilumen 4 Fr 13 cm ARRO039.
- Catéter de termodilución PiCCO arterial (PV2014L16 arteria femoral de adulto pequeño Ø 4F, longitud 16 cm).
- Motinor Pulsion PiCCO Plus® 2002.
- Broncoscopio flexible Karl-Storz 3,7 mm con canal de trabajo.

3.3 QUIRÓFANO E INSTALACIONES:

Los experimentos fueron realizados en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón en los quirófanos de la unidad de cirugía experimental. Los cuales cuentan con mesas y lámparas quirúrgicas, además del material quirúrgico estéril estándar y específico de cirugía torácica.

Los animales se trasladaron a las instalaciones de la unidad cirugía experimental

24 horas antes del procedimiento quirúrgico, en una jaula individual en la que permanece hasta el momento de la intervención. En el animalario se encontraron a temperaturas entre 20-22°C y una humedad relativa del 55%.

3.4 MODELO ANIMAL Y GRUPOS DE ESTUDIO

Estudio experimental, aleatorizado y enmascarado, realizado en la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón y en el Laboratorio de Biología Molecular III de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, aprobado por el comité de experimentación animal y de investigación de la institución. Los animales fueron manejados de acuerdo a las leyes y sugerencias españolas siguiendo la normativa legal según el Real Decreto 1201/2005 de 10 de Octubre y B.O.E de 21 Octubre de 2005 Animales, protección de los utilizados para experimentación y otros fines científicos (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación) que incorpora las disposiciones legales reglamentarias y administrativas de los estados miembros de la CEE respecto a la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos de la Directiva del Consejo 86/609/CEE (Leg. CC.EE.4390) aprobada el 24 de Noviembre de 1996, prestando especial énfasis a la anestesia y alivio del dolor.

Dieciocho cerdos de la raza mini-pig con un peso medio de 36 ± 10 Kg. fueron sometidos a una lobectomía caudal a través de una toracotomía izquierda. Se dividieron en tres grupos de 6 animales cada uno: lidocaína, control y SHAM, asignados aleatoriamente con ayuda del programa Excel (Microsoft Corp, Seattle, WA). El grupo de lidocaína recibió un bolo inicial de 1,5 mg/Kg. de anestésico local después de la inducción anestésica seguido de una perfusión continua de 1,5 mg/Kg/h hasta la finalización de la cirugía. El grupo control recibió un bolo inicial seguido de una

perfusión continua de suero fisiológico. La aleatorización de los grupos son desconocidos por el equipo quirúrgico y anestésico. Al grupo SHAM se le realizó una toracotomía izquierda sin ventilación unipulmonar ni lobectomía caudal.

3.5 PROTOCOLO ANESTÉSICO

Todos los animales recibieron el mismo protocolo anestésico. Ayunas de 18 horas para sólidos y libre acceso al agua. Se premedica a los animales, en la jaula, con 10 mg/kg de ketamina intramuscular (Ketolar®, Parke Davis, Pfizer, Dublin, Ireland). Se trasladan al quirófano donde una vez colocados en posición supina se monitorizan con pulsioxímetro y electrocardiógrafo. Se canaliza una vena periférica en pabellón auricular (abbocath 20 G). La inducción se realiza con fentanilo 3 ug/Kg (Fentanest, Kern Pharmaceuticals, Houston, TX), propofol 3 mg/Kg (Diprivan, AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire, UK), y atracurio 0,6 mg/Kg (Tracrium, Glaxo Smith Kline, Brentford, UK). Se realiza profilaxis antibiótica con penicilina benzatínica. El mantenimiento se realizó con perfusión continua de propofol 10 mg/Kg/h con bomba de infusión y bolos de fentanilo 2ug/Kg según necesidad. La fluidoterapia se realizó con Ringer lactato en perfusión continua a 5 ml/Kg/h también con bomba de infusión. Se realizó intubación orotraqueal con tubo 6-7 mm con neumotaponamiento y se colocó 3 cm sobre la carina durante la ventilación bipulmonar (por encima del broquio traqueal) guiado con fibrobroncoscopio. Durante todo el procedimiento se realizó una estrategia de ventilación de protección pulmonar con un volumen corriente de 8 ml/Kg en ventilación bipulmonar y 6 ml/Kg en ventilación unipulmonar, manteniendo una presión pico menor de 35 cm H₂O y PEEP de 5 cm de H₂O con FiO₂ 0,6. La frecuencia respiratoria fue entre 10 y 14 respiraciones por minuto para mantener pCO₂ arteriales

entre 35 y 45 mmHg y una relación 1:2 entre inspiración y espiración. Se monitorizó la presión pico, media y complianza de forma continua durante todo el experimento. La ventilación unipulmonar se realizó introduciendo el tubo endotraqueal hasta el bronquio derecho guiado con el fibrobroncoscopio antes de abrir la pleura izquierda. La ventilación unipulmonar se mantuvo durante 120 minutos, después el tubo se retiró hasta la tráquea verificando su posición con fibroscopio. La perfusión de propofol se detuvo cuando los cirujanos empiezan a cerrar la toracotomía, se despierta al animal y tras comprobar una correcta ventilación y oxigenación en respiración espontánea se extuba al animal. En el postoperatorio se administra Ketorolaco y dexketoprofeno y se deja libre acceso al agua.

3.6 PROTOCOLO QUIRÚRGICO

Después de la inducción anestésica y canalización de vías femorales se coloca al animal en decúbito lateral derecho. Se procede a la limpieza de la zona con povidona yodada y aislamiento del campo quirúrgico. Con técnica estéril se realiza una toracotomía izquierda entre la quinta y la sexta costilla. Posteriormente con el animal en ventilación unipulmonar se realizó una lobectomía caudal con una duración inferior a 120 minutos. La disección se realizó a través de la cisura interlobar, identificando y ligando vena, arteria y bronquio caudal. Tras 120 minutos se reinicia la ventilación bipulmonar y se revisa la correcta expansión del lóbulo craneal y la estanqueidad de la sutura bronquial. Finalmente se coloca un tubo de drenaje torácico conectado a una válvula unidireccional (Heimlich) y se cierra la toracotomía.

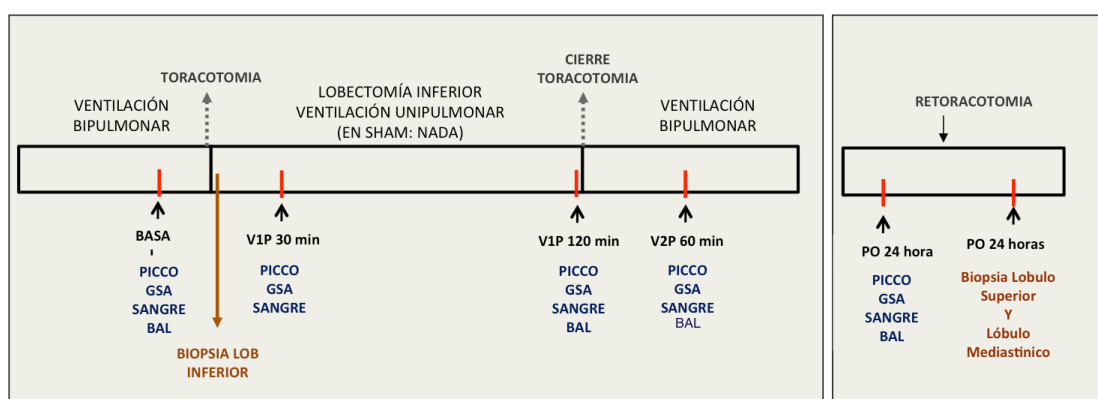
Al grupo SHAM se le realiza el mismo protocolo pero sin ventilación unipulmonar ni lobectomía.

Después de 24 horas se realiza una nueva anestesia general siguiendo el mismo protocolo y monitorización descrito anteriormente seguido de una toracotomía izquierda y se recogen muestras de el lóbulo craneal y el lóbulo mediastínico (parte del lóbulo inferior derecho).

Una vez tomadas las muestras se sacrifica al animal con profundización anestésica y posterior cardioplejia con cloruro potásico.

3.7 MEDICIONES REALIZADAS

Figura 10. Protocolo Experimental



PICCO: Mediciones hemodinámicas. GSA/Sangre: gasometría arterial y bioquímica sanguínea. BAL: Lavado broncoalveolar.

V1P: Ventilación unipulmonar. V2P: ventilación bipulmonar.

3.7.1 PARÁMETROS HEMODINÁMICOS Y GASOMETRÍAS ARTERIALES

Después de la inducción anestésica se canalizan la vena y arteria femoral derecha con catéteres de Arrow-Howes 7 Fr. con disección inguinal hasta visualizarlas y técnica de Seldinger, a través de los mismo se introduce un catéter trilumen venoso y un catéter de termodilución PiCCO arterial (PV2014L16 arteria femoral de adulto pequeño Ø 4F, longitud 16 cm).

Con esta tecnología logramos la medición de presión arterial continua además

del gasto cardíaco y variables derivadas por termodilución transpulmonar que consiste en inyectar una cantidad determinada de suero fisiológico por una vena central, mientras que un termistor en la punta del catéter arterial medirá las variaciones de temperatura. El volumen del gasto cardíaco se calcula mediante la ecuación Steward-Hamilton de la superficie bajo la curva de termodilución transpulmonar. Del periodo medio de paso (MTt) y el tiempo de descenso (DSt) de la curva de termodilución se determinan volumen de precarga y agua pulmonar (479). Al mismo se analiza el contorno de pulso arterial a fin de determinar la compliance aortica. De esta forma se calibra el algoritmo utilizado por la tecnología PiCCO, el volumen sucesivo de latido continuo e individual y finalmente el volumen del gasto cardíaco, así como la variación del volumen latido.

Se monitorizaron las principales variables hemodinámicas: precarga (volumen global al final de la diástole o GEDV), postcarga (resistencia vascular sistémica SVR), contractilidad (velocidad de aumento de presión dPmx), respuesta a fluidos (variación del volumen sistólico SVV) y edema pulmonar (agua pulmonar extravascular EVLW) con ayuda del monitor de termodilución PiCCO-Pulsion.

Se realizaron gasometrías tomadas de la arteria femoral en cinco momentos diferentes, basal, tras 30 minutos de ventilación unipulmonar (30' OLV), a los 120 minutos de ventilación unipulmonar (120' OLV), 60 minutos después de reiniciar la ventilación bipulmonar (60' TLV) y 24 horas después de la lobectomía (24h) (fig. 10).

3.7.2 DETERMINACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS

3.7.2.1 MUESTRAS DE LAVADO BRONCOALVEOLAR Y MUESTRAS SANGUÍNEAS

Los lavados broncoalveolares (LBA) se realizaron guiados con fibrobroncoscopio hasta una división distal del lóbulo inferior derecho, administrando

20 ml de solución salina estéril y luego recolectándola y descartando los primeros 7 ml de cada muestra, en cuatro momentos durante el experimento: basal, tras 120 minutos de ventilación unipulmonar (LBA 120' OLV), 60 minutos después de reiniciar la ventilación bipulmonar (LBA 60' TLV) y 24 horas después de la lobectomía (LBA 24h) (fig. 10). El líquido recuperado se centrifugó a 2500 rpm durante 15 minutos y posteriormente se congeló a -20°C hasta su utilización.

Las muestras sanguíneas para las determinaciones bioquímicas se tomaron de la vena femoral en los siguientes momentos: basal, tras 30 minutos de ventilación unipulmonar (30' OLV), a los 120 minutos de ventilación unipulmonar (120' OLV), 60 minutos después de reiniciar la ventilación bipulmonar (60' TLV) y 24 horas después de la lobectomía (24h) (fig. 10). Se centrifugaron a 1000 rpm durante 10 minutos y se recolectó el plasma sobrenadante que se alicuotó y congeló a -80°C hasta su utilización.

3.7.2.1.1 NIVELES DE CITOQUINAS (IL-2, TNF- α , IL-10) Y METALOPROTEINASAS (MMP-2, MMP-3, MMP-9).

Se midieron por un método inmunoenzimático utilizando kits comerciales específicos.

El fundamento de este método se basa en la unión específica de la proteína contenida en la muestra a anticuerpos monoclonales específicos inmovilizados sobre la superficie de placas de titulación. Para ello las muestras y estándares apropiados se incuban con el anticuerpo. Después de un lavado para eliminar todas las sustancias no unidas que pudiesen interferir con el ensayo, se añade un segundo anticuerpo específico para el primero y conjugado con biotina y se realiza una segunda incubación. Tras la eliminación por lavado del segundo anticuerpo no unido, se incubaron de nuevo en

presencia de un complejo estreptavidina peroxidasa y se cuantificó la proteína unida por una reacción enzimática que originó cambios de color detectables en el espectrofotómetro.

3.7.2.1.2 DETERMINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)

Se determinó como contenido de nitrito + nitrato ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$). Para ello, las muestras se desproteinizaron por adición de ácido sulfosalicílico y se incubaron durante 30 minutos a 4°C. Tras centrifugación a 12000 x g durante 20 minutos, se separó el sobrenadante, que se incubó en presencia de nitrato-reductasa para la reducción de nitrato a nitrito. A continuación se añadió a las muestras reactivo de Griess (0,5% naphthylethylenediamine dihydrochloride, 5% sulfonilamide, 25% H_3PO_4) La reacción se llevó a cabo a 22°C durante 20 minutos, y se leyó su absorbancia a 546 nm utilizando una solución de NaNO_2 como estándar.

La señal medida es lineal de 1 a 150 mM. ($r=0,994$, $p<0,001$, $n=5$). El umbral de detección es 2 μM . La reproducibilidad del experimento fue evaluada en tres experimentos independientes y cada uno repetido tres veces. El promedio de variación intra-ensayo calculado fue inferior al 5%. La reproducibilidad de experimento a experimento se evaluó en tres experimentos independientes. El promedio de variación inter-ensayo calculado fue inferior a 6%.

3.7.2.2 DETERMINACIONES EN TEJIDO PULMONAR

Inmediatamente después de realizar la toracotomía, se toma una biopsia del lóbulo caudal izquierdo, y al día siguiente se realizan biopsias del lóbulo cefálico izquierdo (colapsado durante la ventilación unipulmonar) y del lóbulo mediastínico (no colapsado durante la ventilación unipulmonar) (fig. 10). Las muestras se almacenan en criotubos y se congelan a -80°C hasta su análisis.

3.7.2.2.1 ESTUDIO DE EDEMA PULMONAR

La gravimetría es considerada la técnica gold estándar para medir el edema pulmonar, y consiste en ver la relación entre el peso húmedo y el peso seco en una muestra (480). Para cuantificar la relación húmedo a seco se tomaron aproximadamente 50 mg de cada muestra de pulmón se incubaron 12 horas a 60°C y se pesaron nuevamente. Los valores obtenidos se analizaron con la siguiente fórmula: $(\text{peso húmedo} - \text{peso seco}) / \text{peso húmedo}$.

3.7.2.2.2 ACTIVIDAD DE CASPASAS Y METALOPROTEINASAS

Se determinaron por ELISA utilizando Kits comerciales específicos (Bender).

El fundamento es el mismo que el descrito anteriormente para la determinación de citoquinas.

Las muestras congeladas fueron pesadas y transferidas a tubos de propileno de 50ml (Falcon; Becton Dickinson, Lincoln Park, NJ) que contenían buffer de lisis (4°C) en un ratio de 10ml buffer/gr de tejido mojado. El buffer de lisis consistía en fenilmetilsulfonilfluoride 1mM (PMSF; Sigma Chemical Company), 1mg/ml pepstatin

A (Sigma Chemical Company), aprotinina (Sigma Chemical Company), y leupeptina (Sigma Chemical Company) en una solución salina 1 x buffer fosfato de pH 7.2 (Biofluids, Rockville, MD) conteniendo 0.05% ácida sódica (Sigma Chemical Company). Las muestras fueron homogeneizadas durante 30 segundos con un homogeneizador eléctrico (Polytron; Brinkmann Instruments, Westminister, NY) a velocidad máxima, y los tubos congelados en nitrógeno líquido. Las muestras fueron homogeneizadas tres veces para procesamiento óptimo. Después fueron incubadas en baño maría a 37°C y centrifugadas a 119,000 x g (1h 4°C) para separar las organelas celulares. El sobrenadante fue congelado a -80°C para permitir la formación de agregados macromoleculares. Después de descongelar a 4°C, los agregados fueron centrifugados a 3000x g (4°C) y el homogeneizado final fue medido con una pipeta graduada. Los homogeneizados se guardaron a -80°C hasta el momento de la determinación de metaloproteinasas y caspasas siguiendo las instrucciones del fabricante.

3.7.2.2.2.1 EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS (TNF- α , IL-1 β , IL-10, BAD, BAX, BAK, Bcl-2, MCL-1, iNOS, eNOS y NF- κ B)

Se realizó por Western Blot utilizando anticuerpos específicos.

Las muestras se homogeneizaron en tampón de lisis (100mmol/L NaCl, 10mmol/L TRIS-Cl (pH 7,6) 1mmol/L EDTA (pH 8), 1mg/ml aprotinina, 100mg/ml PMSF). Todas las muestras se diluyeron (1:1) con tampón 2X (100mmol/L TRIS-HCl (pH 6,8), 4% SDS, 20% glicerol, 0,1 azul de bromofenol, 200mmol/L ditiotreitól) y se hirvieron 10 minutos a 100°C. Para corregir posibles variaciones en el tamaño de las muestras se determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford

Cantidades equivalentes de proteína se sometieron a electroforesis en gel de SDS

poliacrilamida (10%). Una vez separadas las proteínas, eran transferidas a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, Mississauga, Ontario) a la que quedan unidas irreversiblemente y donde son más accesibles a los anticuerpos específicos. A continuación las membranas se incubaron 90 minutos a 37°C en un buffer (20mmol/L TRIS, 150 mmol/L NaCl, 0,2% Nonidet P 40, 5% leche desnatada) para bloquear la unión inespecífica, y después se incubaron 60 minutos a 20°C en presencia de anticuerpos primarios específicos. Tras un lavado para eliminar el anticuerpo no unido, las membranas se incubaron de nuevo durante 60 minutos a 20°C en presencia de un anticuerpo secundario que reconoce inmunoglobulinas de conejo, acoplado covalentemente a una peroxidasa (horseradish peroxidase-conjugated polyclonal anti-rabbit IgG secondary antibody, Transduction Lab, Lexington, KY).

Después de lavar con T-TBS las membranas fueron incubadas con reactantes de detección ECL Plus (Amersham Life Science Inc., Buckinghamshire, UK) y expuestas a una película de rayos X. Las películas fueron escaneadas con un densitómetro (BioRad GS 800) para determinar sus densidades ópticas relativas. Marcadores proteicos marcados previamente fueron usados para las determinaciones del peso molecular. La reproducibilidad dentro de los ensayos fue evaluada con tres experimentos independientes. Cada ensayo se realizó con tres replicados. El coeficiente de variación intra-ensayo fue menor de 5%. El coeficiente de variación inter-ensayo fue menor de 6%.

3.7.2.2.2 EXPRESIÓN DE RNA MENSAJERO (*MCP-1, IL-1, TNF- α , IL-10, NF- κ B, iNOS*)

Se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR).

El RNA fue aislado de la muestras pulmonares porcinas utilizando el método

descrito por Chomczynski (481), usando el kit TRI reactivo (Molecular Research Center, Inc, Cincinnati, OH, USA), siguiendo el protocolo de los productores. La pureza del DNA se midió con electroforesis en gel 1,5% agarosa, y las concentraciones de RNA fueron determinadas con espectrofotometría (260nm). La transcripción inversa de 2µg de RNA se realizó utilizando el sistema de transcripción inversa (Promega, Madison, WI, USA) y una hexámero pd(N)₆ aleatorio. La RT-PCR se realizó usando un aparato Applied Biosystems 7300 con SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Warrington, UK), y con concentraciones de 300nm de primers específicos (Tabla 3).

La amplificación RT-PCR fue realizada de la forma siguiente: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 15s, 60°C durante 1 minuto, 95° C durante 15s, 60°C durante 30s y 95° durante 15s. Para la normalización de la carga del cDNA en PCR, se utilizó la amplificación del 18S rRNA por cada muestra. Los cambios relativos en la expresión genética fueron calculados utilizando el método 2- $\Delta\Delta$ CT (482).

Tabla 3. Secuencia de primers utilizada.

RNA MENSAJERO	Primers	Secuencia (5'-3')
Proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1)	Forward	ACAGAAGAGTCACCAGCAGCAA
	Reverse	GCCCGCGATGGTCTT
Interleuquina 1 (IL-1)	Forward	TGTGATGAAAGACGGCACAC
	Reverse	CTTCTTCTTTGGGTATTGTTTGG
Factor de necrosis tumoral α (TNF-α)	Forward	ATGAGAAGTTCCCAAATGGC
	Reverse	CTCCACTTGGTGGTTTGCTA
Interleuquina 10 (IL-10)	Forward	ACTGCACCCACTTCCCAGT
	Reverse	TTGTCCAGCTGGTCCTTTGT
Factor Nuclear κB (NF-κB)	Forward	CAGCTCTTCTCAAAGCAGCA
	Reverse	TCCAGGTCATAGAGAGGCTCA
Óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS)	Forward	CTTTGCCACGGACGAGAC
	Reverse	TCATTGTACTCTGAGGGCTGAC
18 S	Forward	GGTGCATGGCCGTTCTTA
	Reverse	TCGTTCGTTATCGGAATTAACC

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se expresan como media \pm la desviación estándar de la media.

Se compararon muestras de plasma, lavado broncoalveolar y tejido pulmonar de los 3 grupos (control, lidocaína y SHAM). Se analizó cada parámetro por separado. En el tejido pulmonar, se compararon los valores de lóbulo medistínico (ML ventilado durante OLV) y lóbulo superior izquierdo (LSI no ventilado durante OLV) por separado. Se utilizó la prueba de Kruskal - Wallis para identificar cualquier diferencia significativa entre los grupos (la hipótesis nula fue rechazada con un valor $\alpha = 0,05$). A continuación, usamos la prueba U de Mann-Whitney para analizar los pares de muestras específicas que mostraran diferencias significativas.

4 RESULTADOS

4.1 PARÁMETROS CARDIO-RESPIRATORIOS

El uso de lidocaina IV no afectó los valores hemodinámicos, de gases sanguíneos o presiones en la vía aérea durante el experimento ni el día posterior a la cirugía. Únicamente el grupo SHAM tuvo una oxigenación mayor y una menor presión en la vía aérea que los otros dos grupos durante la ventilación unipulmonar los mismos (Tabla 4 y 5).

Tabla 4. Valores Hemodinámicos

	GRUPO	BASAL media (SD)	OLV + 120 media (SD)	TLV + 60 media (SD)	24 H media (SD)
FC (lpm)	CON	94.6 (14)	90.8 (8)	96.8 (8)	82.8 (16)
	LIDO	85.2 (12)	107.8 (25)	108.8 (9)	94.8 (11)
	SHAM	89.0 (24)	88.0 (17)	87.8 (10)	95.0 (16)
PAM (mm de Hg)	CON	92 (27)	97 (10)	124 (17)	104 (10)
	LIDO	99 (16)	102 (18)	119 (10)	98 (15)
	SHAM	93 (11)	102 (11)	114 (14)	106 (22)
IC (l/min/m ²)	CON	3.47 (0.8)	3.14 (0.4)	3.74 (1.0)	2.84 (0.9)
	LIDO	3.75 (1.2)	3.11 (0.9)	3.90 (1.0)	2.67 (0.4)
	SHAM	2.73 (0.6)	2.83 (1.2)	3.45 (1.1)	3.02 (1.1)
VVS (%)	CON	18.4 (6.2)	15.0 (2.7)	14.6 (4.3)	17.8 (7.4)
	LIDO	15.4 (4.9)	11.0 (4.6)	16.6 (3.6)	24.4 (5.3)
	SHAM	19.0 (5.4)	11.2 (6.6)	18.0 (5.1)	25.7 (9.1)
RVSI (dyn/s/cm ⁵ /m ²)	CON	1899 (496)	2349 (405)	2739 (664)	2798 (1185)
	LIDO	2270 (1089)	3008 (1600)	2595 (884)	2893 (629)
	SHAM	2897 (939)	3126 (1383)	3067 (1604)	2948 (1050)

Datos expresados como media (desviación estándar: SD), OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. LIDO: Lidocaína. FC: Frecuencia cardíaca; PAM: Presión arterial media; IC: Índice cardíaco; VVS: Variabilidad del volumen sistólico; IRVS: Índice de resistencia vasculares sistémicas.

Tabla 5. Parámetros Respiratorios y Gases Arteriales

	GRUPO	BASAL media (SD)	OLV+120 media (SD)	TLV+60 media (SD)	24 H media (SD)
	CON	100 (0.0)	99.2 (0.9)	99.0 (1.1)	99.8 (0.4)
SaO ₂ (%)	LIDO	98.8 (2.2)	99.8 (0.4)	99.8 (0.4)	100 (0.0)
	SHAM	99.5 (1.2)	100 (0.0)	100 (0.0)	100 (0.0)
ANOVA		NS	NS	NS	NS
	CON	236 (55)	176 (27)	235 (48)	245(59)
PaO ₂	LIDO	266 (83)	200 (30)	235 (52)	267(43)
(mmHg)	SHAM	279 (77)	256 (45)	251 (51)	252(54)
ANOVA		NS	0.03(*, #)	NS	NS
	CON	41.4 (5.9)	43.4 (6.8)	48.0 (9.7)	38.8 (6.9)
PaCO ₂	LIDO	41.0 (6,5)	45.2 (6.6)	46.2 (7.9)	40.0 (3.0)
(mmHg)	SHAM	41.3 (4.2)	41.3 (4.0)	45.0 (8.7)	39.2 (6.6)
ANOVA		NS	NS	NS	NS
	CON	7.5 (0.1)	7.5 (0.1)	7.4 (0.1)	7.5 (0.1)
pH	LIDO	7.5 (0.1)	7.4 (0.1)	7.4 (0.1)	7.5 (0.0)
	SHAM	7.5 (0.0)	7.5 (0.0)	7.5 (0.1)	7.5 (0.1)
ANOVA		NS	NS	NS	NS
	CON	28.4 (3.8)	34.8 (7.1)	32.2 (9.7)	31.6 (6.9)
PpAW	LIDO	27.9 (3.3)	35.6 (5.4)	31.2 (7.2)	32.8 (7.4)
(cm H ₂ O)	SHAM	28.2 (3.1)	30.5 (8.8)	32.8 (11)	31.6 (8.5)
ANOVA		NS	0.041(*, #)	NS	NS
	CON	7.0 (1.0)	7.6 (1.7)	7.8 (1.3)	7.6 (1.1)
Pmedia	LIDO	7.0 (3.0)	8.6 (0.5)	9.4 (1.9)	8.8 (1.0)
(cm H ₂ O)	SHAM	7.0 (0.6)	7.2 (1.7)	7.7 (1.6)	8.3 (1.8)
ANOVA		NS	NS	NS	NS

Datos expresados como media (desviación estándar: SD) OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. LIDO: Lidocaína. PpAW: Presión pico en la vía aérea; Pmedia: Presión media en la vía aérea; NS: No significativo. CON vs SHAM (*). SHAM vs LIDO (#).

4.2 DETERMINACIONES EN PLASMA

4.2.1 BIOMARCADORES OBTENIDOS EN SANGRE

Tabla 6. Biomarcadores obtenidos en Sangre

GRUPO		BASAL	OLV + 120	TLV + 60	24H
		media (SD)	media (SD)	media (SD)	media (SD)
TNF (µg/µl)	SHAM	38.7 (8)	40.7 (2)	39.1 (4)	40.1 (12)
	CON	39.6 (23)	81.8 (27) ‡	106.4 (34)‡	144.1 (44)‡
	LIDO	36.3 (10)	45.5 (14)	49.8 (28)	76.3 (12)
	ANOVA	.928	.002 (*,&)	.001 (*,&)	.000 (*,&)
IL2 (µg/µl)	SHAM	4.1 (1)	3.7 (1)	4.1 (1)	4.6 (2)
	CON	4.7 (3)	3.7 (0)	6.3 (1)	6.5 (1)
	LIDO	3.9 (1)	3.2 (2)	4.0 (1)	4.5 (2)
	ANOVA	.746	.747	.001 (*,&)	.136
MMP2 (µg/µl)	SHAM	7.0 (1)	6.9 (2)	7.6 (2)	7.1 (1)
	CON	7.1 (1)	7.9 (2)	8.3 (1)	10.1 (1)‡
	LIDO	6.3 (2)	7.0 (2)	7.9 (1)	7.4 (1)
	ANOVA	.569	.531	.728	.000 (*, &)
MMP9 (µg/µl)	SHAM	158.6 (30)	160.3 (21)	171.9 (18)	182.4 (12)
	CON	161.8 (24)	181.7 (20)	206.1 (28)‡	260.2 (30)‡
	LIDO	149.4 (33)	158.8 (25)	176.7 (13)	204.3 (31)‡
	ANOVA	.751	.171	.024 (*,&)	.000 (*, &)
MMP3 (µg/µl)	SHAM	2.8 (1)	3.0 (0,2)	3.0 (0,3)	3.0 (0,3)
	CON	3.1 (0,2)	3.2 (0,2)	3.3 (1)	3.1 (0,1)
	LIDO	3.1 (0,3)	3.0 (0,2)	3.2 (1)	3.1 (0,1)
	ANOVA	.424	.428	.440	.783

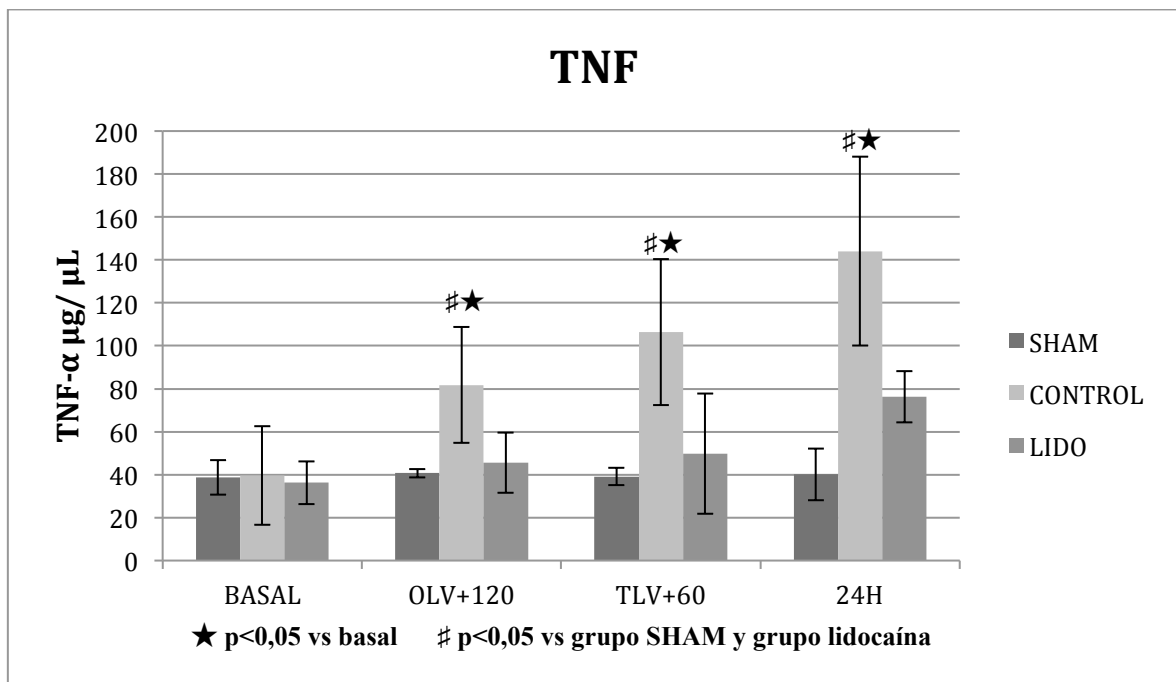
Datos expresados como media (desviación estándar: SD), OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. LIDO: Lidocaína. CON vs SHAM (*). CON vs LIDO (&). p<0.05 vs BASAL (‡).

4.2.1.1 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

Los niveles de TNF- α en el grupo control fueron significativamente mayores que en el grupo SHAM y el grupo de la lidocaína a partir de los 120 minutos de ventilación unipulmonar.

El TNF- α en el grupo control aumentó progresivamente durante todo el procedimiento quirúrgico y a las 24 horas, mientras que en el grupo de la lidocaína existe un pequeño aumento durante el experimento pero que no es estadísticamente significativo y no muestra diferencias con el grupo SHAM en el cual no existen variaciones en el valor de TNF- α a lo largo del experimento (gráfico 1, tabla 6).

Gráfico 1. Niveles de factor de necrosis tumoral α (TNF- α) obtenidos en sangre

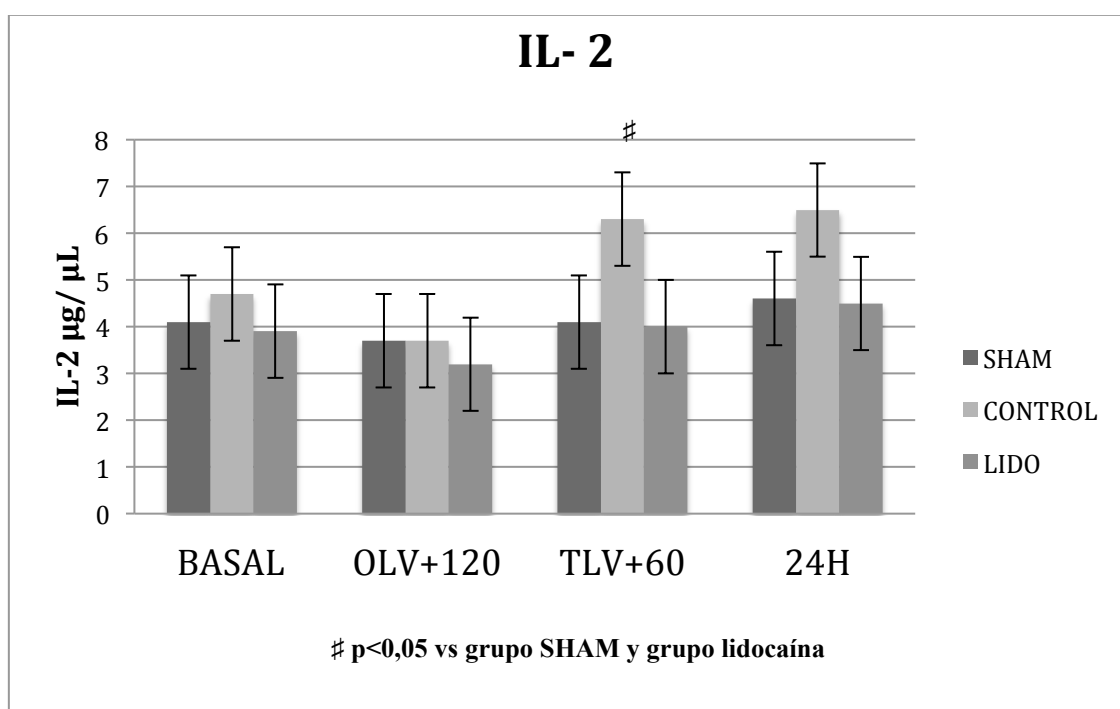


4.2.1.2 Interleuquina 2 (IL-2)

Los valores de IL-2 permanecieron en niveles similares a los obtenidos en la medición basal en los grupos de la lidocaína y SHAM.

Sin embargo, el grupo control experimentó un significativo aumento a los 60 minutos de regresar a la ventilación bipulmonar (TLV+60), siendo estadísticamente significativas las diferencias entre estos valores y los observados en los grupos de lidocaína y SHAM (gráfico 2, tabla 6).

Gráfico 2. Niveles de interleuquina 2 (IL-2) obtenidos en sangre

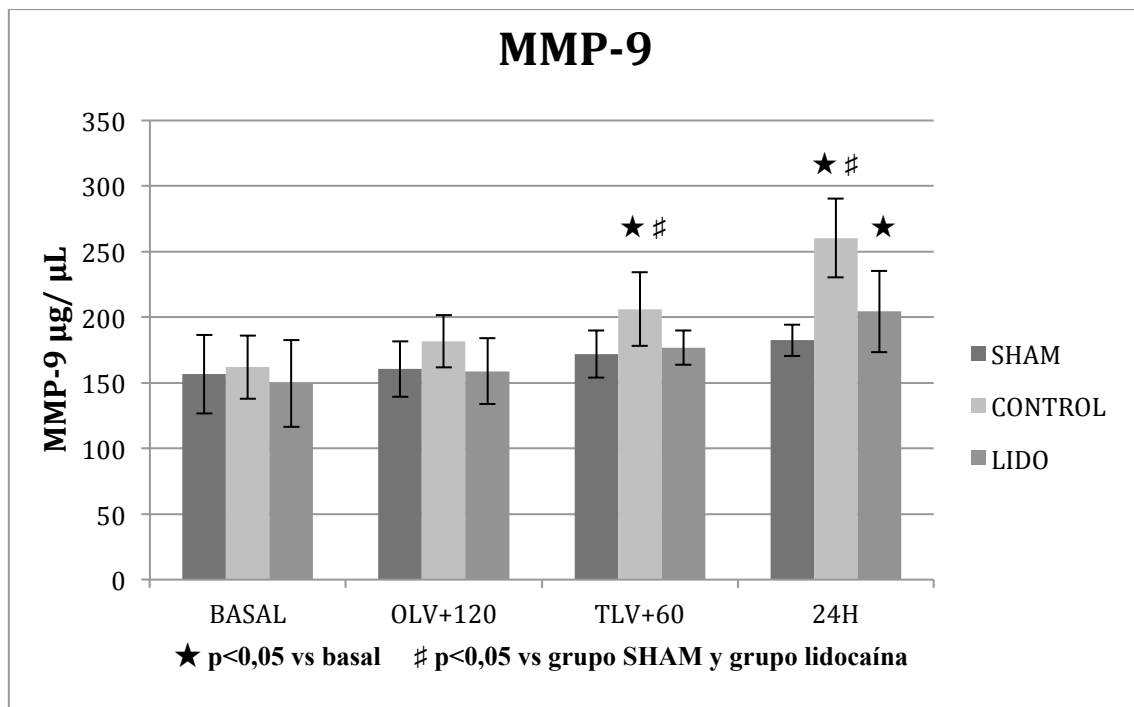


4.2.1.3 Metaloproteinasa MMP-9

En el grupo SHAM no se modificaron los valores de MMP-9 durante el experimento. Se observó un aumento en los niveles de MMP-9 a los 60 minutos de reiniciar la ventilación bipulmonar (TLV+60) y a las 24 horas de la cirugía (24H) en el grupo control, este aumento es significativamente mayor al comprarlos con el grupo SHAM y grupo lidocaína en ambos momentos.

En el grupo de lidocaína se observó un aumento en los niveles de MMP-9 a las 24 horas de la cirugía (24H), pero no presenta diferencias estadísticamente significativas con el grupo SHAM (gráfico 3, tabla 6).

Gráfico 3. Niveles de metaloproteinasa 9 (MMP-9) obtenidos en sangre

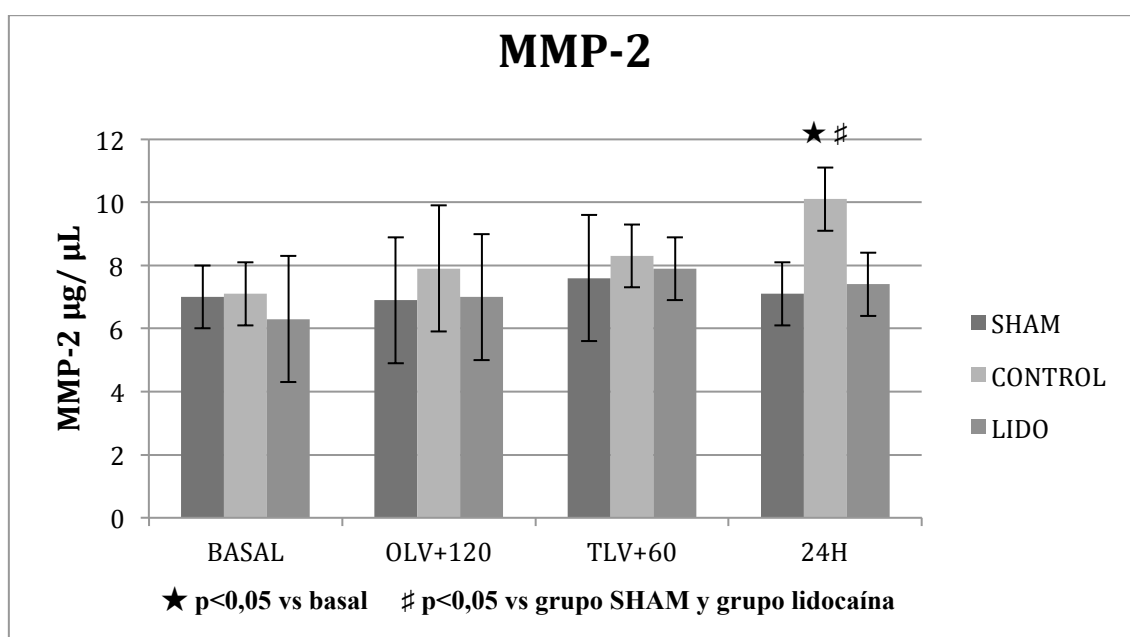


4.2.1.4 Metaloproteinasa 2 MMP-2

Los niveles de MMP-2 no se modificaron durante el estudio en los animales del grupo SHAM ni lidocaína.

Sin embargo a las 24 horas de la intervención (24H) los animales del grupo control mostraron mayores niveles de MMP-2 respecto a la medición basal, y estos niveles son significativamente mayores que los presentados por los grupos de lidocaína y SHAM (gráfico 4, tabla 6).

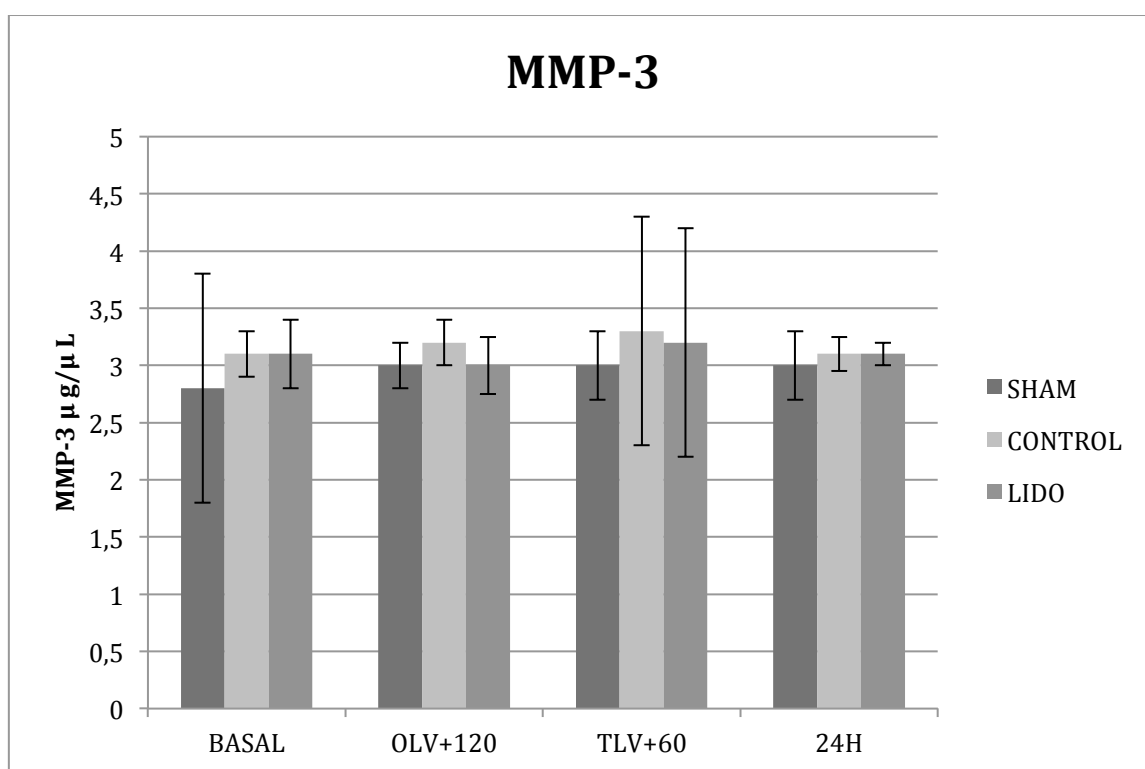
Gráfico 4. Niveles de metaloproteinasa 2 (MMP-2) obtenidos en sangre



4.2.1.5 Metaloproteínasa 3 MMP-3

Los niveles de MMP-3 no se modificaron en ningún grupo durante todo el experimento y no existieron diferencias significativas en las comparaciones realizadas entre los grupos (gráfico 5, tabla 6).

Gráfico 5. Niveles de metaloproteínasa 3 (MMP-3) obtenidos en sangre



4.2.2 DETERMINACIONES EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES

Tabla 7. Biomarcadores obtenidos en Lavado Broncoalveolar

		BASAL	OLV + 120	TLV + 60	24 H
		media (SD)	media (SD)	media (SD)	media (SD)
	SHAM	22.4 (4)	25.7 (4)	23.7 (3)	24.3 (3)
NO	CON	20.3 (6)	13.2 (2)	15.6 (3)	13.7 (3)
(µg/µl)	LIDO	21.3 (5)	26.1 (10)	23.4 (3)	22.5 (6)
ANOVA		0,742	0,005 (*,&)	0,001 (*,&)	0,001 (*,&)
	SHAM	67.0 (10)	68.3 (8)	72.1 (8)	77.7 (15)
TNF	CON	68.0 (26)	208.1 (26) ‡	225.9 (46) ‡	139.9 (22) ‡
(µg/µl)	LIDO	66.1 (29)	109.1 (21) ‡	185.1 (61) ‡	111.2 (27) ‡
ANOVA		0.990	0.000 (*,&,#)	0.000 (*,&,#)	0.001 (*)
	SHAM	10.0 (2)	9.6 (0)	9.3 (3)	9.1 (3)
IL2	CON	9.7 (4)	15.1 (8) ‡	11.5 (4)	11.1 (5)
(µg/µl)	LIDO	9.4 (3)	13.7 (4)	11.9 (3)	9.9 (2)
ANOVA		0.952	0.160	0.444	0.627
	SHAM	39.3 (5)	40.4 (2)	42.9 (6)	43.9 (4)
IL10	CON	39.1 (6)	45.8 (4)	47.2 (4) ‡	47.2 (7) ‡
(µg/µl)	LIDO	39.7 (2)	44.4 (1)	43.4 (4)	42.7 (1)
ANOVA		0.970	0.016 (*)	0.217	0,239
	SHAM	3.5 (0)	3.7 (0)	5.2 (1)	5.2 (1)
MMP2	CON	3.7 (0)	12.0 (4) ‡	13.2 (6) ‡	21.7 (11) ‡
(µg/µl)	LIDO	3.8 (0)	9.6 (5) ‡	10.2 (3) ‡	7.8 (2)
ANOVA		.293	.005 (*, #)	.008 (*, #)	.001 (*,&)
	SHAM	359.4 (67)	2579.2 (598) ‡	1245.1 (214)	453.5 (159)
MMP9	CON	387.7 (113)	4198.7 (804) ‡	4936.1 (1550) ‡	5771.7 (386) ‡
(µg/µl)	LIDO	375.3 (235)	2772.9 (829) ‡	4086.2 (193) ‡	4875.2 (706) ‡
ANOVA		0.95	0.00 (*,&)	0.00 (*, &, #)	0.00 (*, &, #)
	SHAM	3.1 (1)	3.0 (0)	3.2 (0)	3.0 (0)
MMP3	CON	3.2 (0)	3.3 (1)	3.3 (0)	3.1 (0)
(µg/µl)	LIDO	3.0 (0)	3.0 (0)	3.1 (0)	3.1(0)
ANOVA		.694	.451	.435	.702

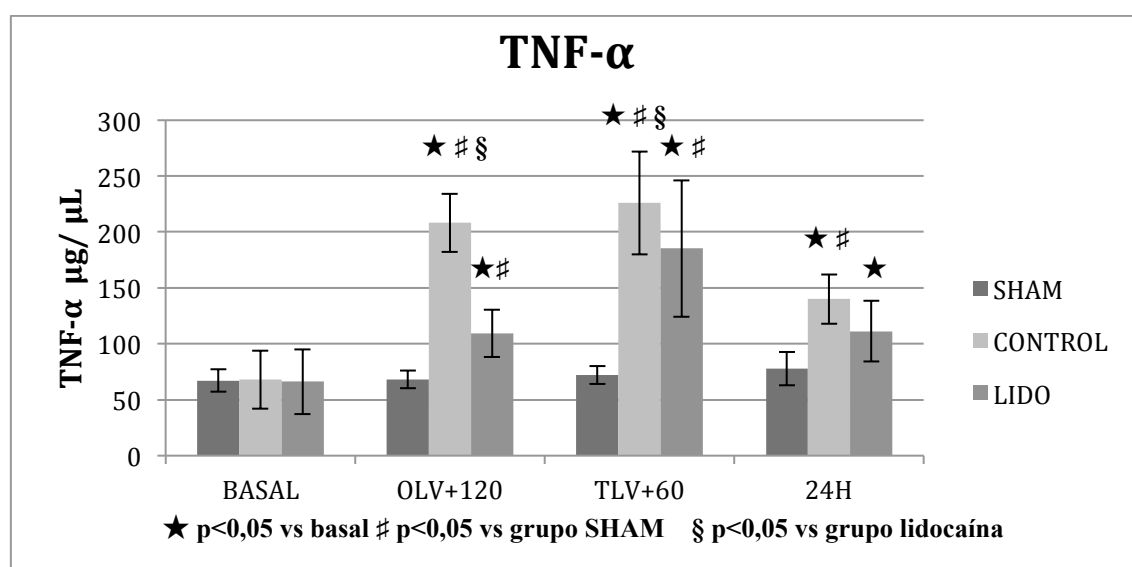
Datos expresados como media (desviación estándar: SD), OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. LIDO: Lidocaína. CON vs SHAM (*). CON vs LIDO (&). SHAM vs LIDO (#). p<0.05 vs BAS (‡).

4.2.2.1 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

Los niveles de TNF- α permanecieron estables en todas las mediciones realizadas en el grupo SHAM. Por el contrario los animales del grupo control y lidocaína experimentaron un aumento significativo de estos valores en comparación con las mediciones basales.

Los valores de TNF- α en los LBA del grupo control fueron significativamente mayores que los obtenidos en el grupo SHAM y lidocaína a los 120 minutos de ventilación unipulmonar (OLV+120) y a los 60 minutos de reiniciar la ventilación bipulmonar (TLV+60). A las 24 horas siguientes a la cirugía (24H) no existieron diferencias significativas con el grupo de lidocaína pero si con los valores obtenidos en el grupo SHAM. El animales del grupo lidocaína presentaron significativamente mayores niveles de TNF- α en las mediciones realizadas en los LBA a los 60 minutos de reiniciada la ventilación bipulmonar (TLV+60) que en las mediciones basales (gráfico 6, tabla 7).

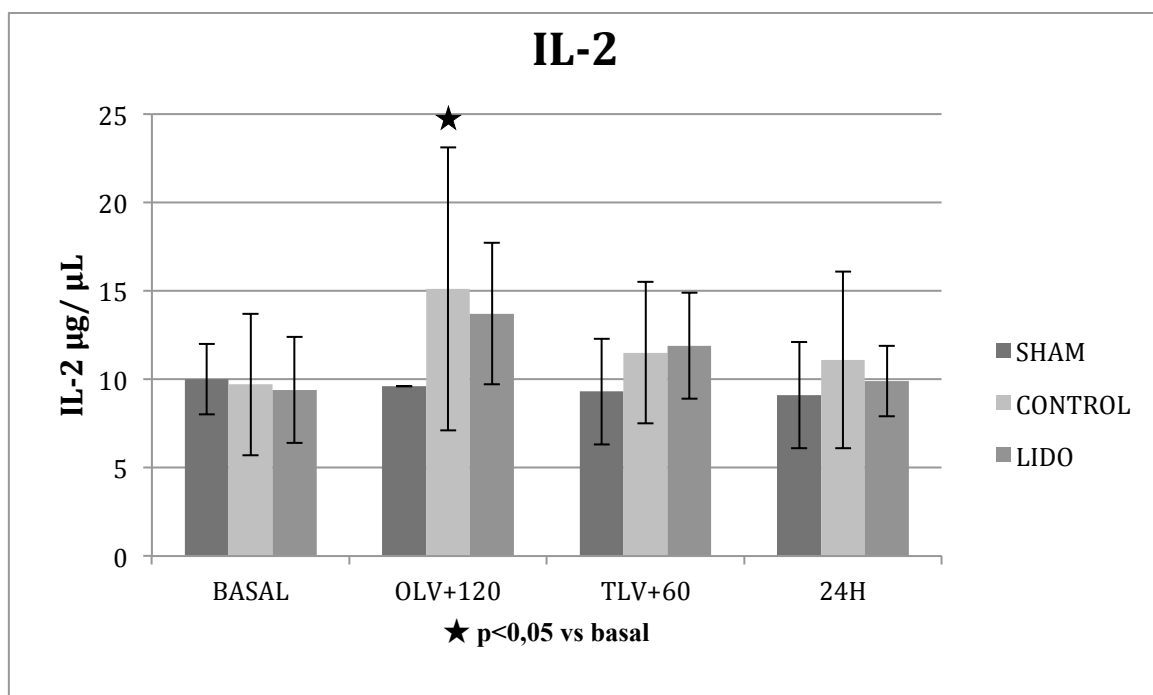
Gráfico 6. Niveles de factor de necrosis tumoral α (TNF- α) obtenidos en LBA



4.2.2.2 Interleuquina 2 IL-2

Los niveles de IL-2 en los LBA no se modificaron en el grupo SHAM, mientras que en el grupo control y en el grupo lidocaína se observó un aumento a los 120 minutos de ventilación unipulmonar (OLV+120) pero únicamente en el grupo control ese aumento es significativo (gráfico 7, tabla 7).

Gráfico 7. Niveles de interleuquina 2 (IL-2) obtenidos en LBA

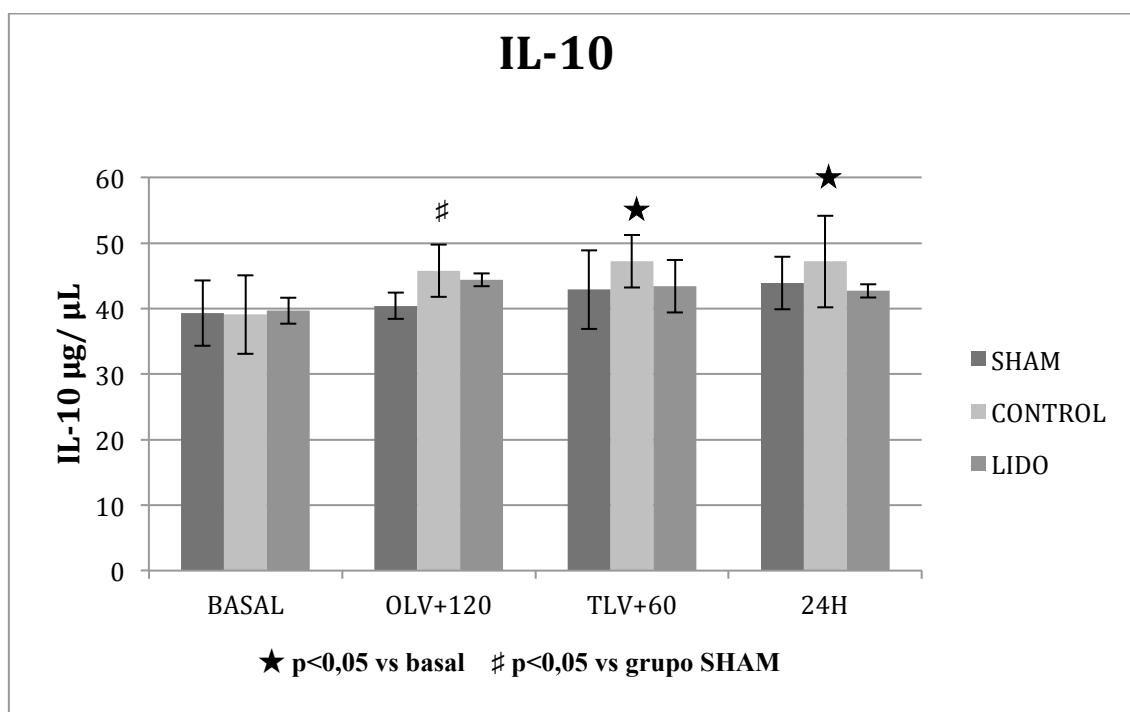


4.2.2.3 Interleuquina 10 IL-10

Los niveles de IL-10 en LBA no se modificaron durante el estudio en las muestras analizadas del grupo SHAM y lidocaína. Por el contrario el grupo control presentó un incremento respecto a los valores basales a los 60 minutos de reiniciada la ventilación bipulmonar (TLV+60) y a las 24 horas de la cirugía (24H).

Además a los 120 minutos de ventilación unipulmonar los niveles de IL-10 en el grupo control son significativamente mayores que los que presenta el grupo SHAM (gráfico 8, tabla 7).

Gráfico 8. Niveles de interleuquina 10 (IL-10) obtenidos en LBA



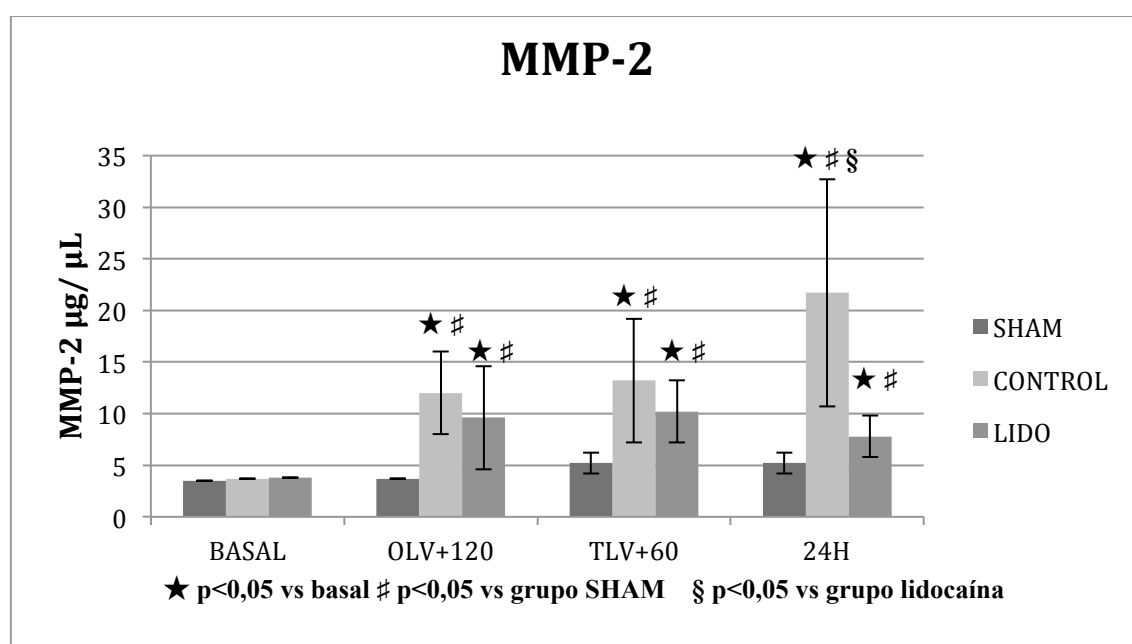
4.2.2.4 Metaloproteinasa 2 MMP-2

Los niveles de MMP-2 en el LBA no se modificaron durante el estudio en los animales del grupo SHAM.

Sin embargo, en el grupo control y lidocaína mostraron un aumento estadísticamente significativo respecto a las mediciones basales a partir de los 120 minutos de VUP y hasta las 24 horas después de la cirugía. Además este aumento es en ambos grupos significativamente mayor los valores encontrados en el grupo SHAM.

A las 24 horas de la cirugía (24H) los niveles de MMP-2 en LBA son significativamente mayores en el grupo control que los encontrados en el grupo lidocaína (gráfico 9, tabla 7).

Gráfico 9. Niveles de metaloproteinasa 2 (MMP-2) obtenidos en LBA



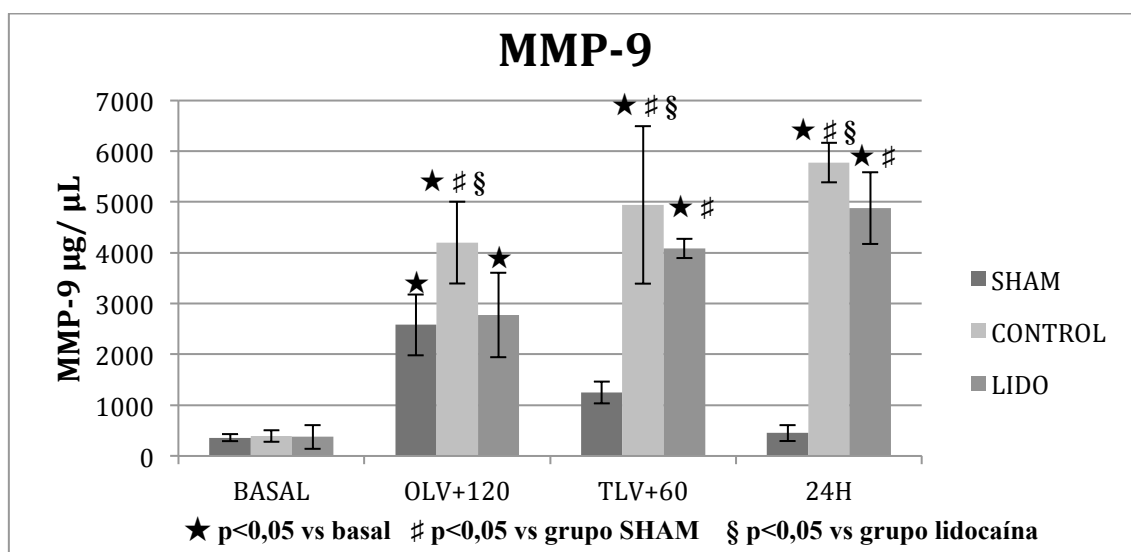
4.2.2.5 Metaloproteínasa 9 MMP-9

Los animales del grupo SHAM experimentaron un incremento significativo de MMP-9 respecto a los valores basales únicamente a los 120 minutos de VUP (OLV+120). Mientras que en los animales del grupo control y lidocaína este aumento se observó a partir de los 120 minutos de VUP y durante todo el experimento.

A los 120 minutos de VUP (OLV+120) los niveles de MMP-9 fueron significativamente mayores en el grupo control al compararlo con los grupos SHAM y lidocaína.

Los niveles de este marcador en LBA en los animales del grupo control y lidocaína fueron significativamente mayores a los observados en el grupo SHAM a los 60 minutos de reiniciar la ventilación bipulmonar (TLV+60) y a las 24 horas de la cirugía (24H). Sin embargo, los niveles encontrados esos momentos en el grupo control son significativamente mayores a los encontrados en el grupo lidocaína (gráfico 10, tabla 7).

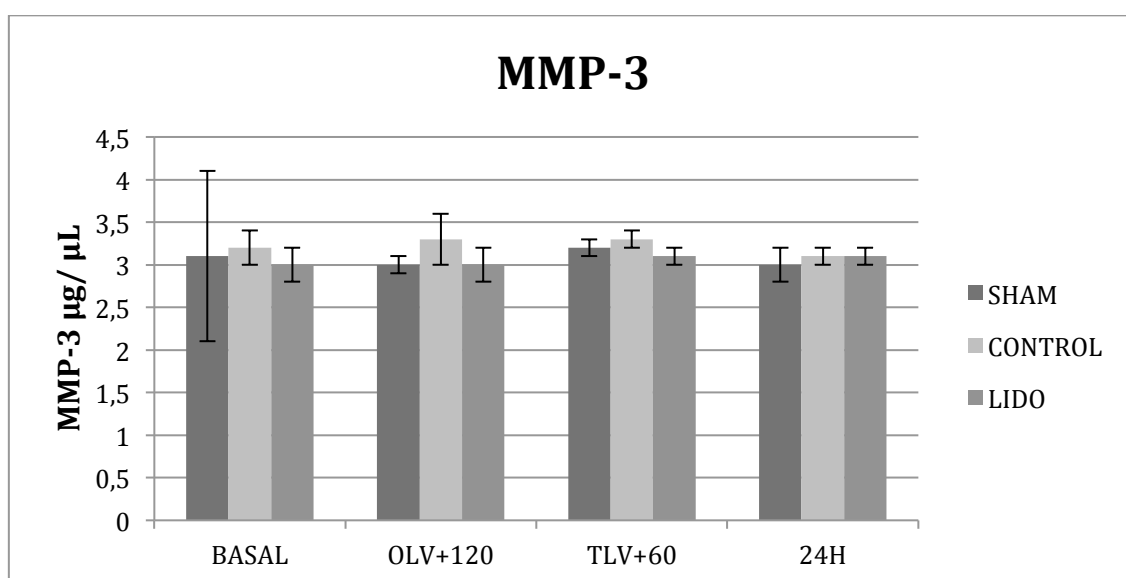
Gráfico 10. Niveles de metaloproteínasa 9 (MMP-9) obtenidos en LBA



4.2.2.6 Metaloproteínasa 3 MMP-3

Los niveles de MMP-3 no variaron durante todo el experimento y no existieron diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones realizadas entre los grupos (gráfico 11, tabla 7).

Gráfico 11. Niveles de metaloproteínasa 3 (MMP-3) obtenidos en LBA



4.2.3 DETERMINACIONES EN TEJIDO PUMONAR

Tabla 8. Biomarcadores obtenidos en Biopsias Pulmonares

	GRUPO	LII media (SD)	LM media (SD)	LSI media (SD)
TNF- α (uu.aa)	SHAM	0.7 (0,1)	1.5 (0,2)	1.7 (1)
	CON	1.2 (1)	5.6 (3) ‡	6.9 (3) ‡
	LIDO	0.9 (0,1)	1.2 (0,1)	1.8 (1)
ANOVA		.607	.007 (*,&)	.002 (*,&)
IL-1 (uu.aa)	SHAM	1.1 (0)	1.4 (1)	1.6 (1)
	CON	1.2 (0)	1.7 (0)	5.5 (1) ‡ ¥
	LIDO	1.1 (1)	1.3 (1)	1.6 (2)
ANOVA		.815	.461	.006 (*, &)
IL10 (uu.aa)	SHAM	1.4 (1)	1.7 (0)	2.0 (1)
	CON	1.6 (1)	1.7 (1)	4.9 (3) ‡
	LIDO	1.3 (1)	1.6 (1)	2.6 (1) ‡ ¥
ANOVA		.940	.904	.045 (*,&)
NF-kB (uu.aa)	SHAM	0.5 (0)	0.7 (1)	0.7 (1)
	CON	0.7 (0)	1.7 (1) ‡	3.9 (3) ‡ ¥
	LIDO	0.7 (1)	2.0 (1) ‡	2.2 (1) ‡
ANOVA		.672	.170	.045 (*, &)
MCP-1 (uu.aa)	SHAM	0.9 (0.3)	1.1 (0.3)	0.9 (0.2)
	CON	1.2 (0.1)	1.6 (0.2) ‡	1.6 (0.1) ‡
	LIDO	0.8 (0.3)	0.8 (0.2)	1.5 (0.2) ‡ ¥
ANOVA		.316	.012 (*,&)	.030 (*, #)
CASPASA3 (D.O)	SHAM	4.15 (0.1)	4.12 (0.0)	4.14 (0.0)
	CON	4.07 (0.1)	4.83 (0.1) ‡	4.4 (0.1) ‡
	LIDO	4.04 (0.1)	4.22 (0.1)	4.31 (0.1)
ANOVA		.801	.000 (*, &)	.008 (*)
CASPASA9 (D.O)	SHAM	13.84 (0.1)	14.01 (0.2)	13.92 (0.1)
	CON	14.03 (0.1)	15.03 (0.1) ‡	16.13 (0.2) ‡ ¥
	LIDO	14.04 (0.0)	14.30 (0.1)	14.60 (0.2) ‡
ANOVA		.176	.000 (*, &)	.000 (*, &, #)
BAD (D.O)	SHAM	0.80 (0.0)	0.95 (0.1)	0.81 (0.1)
	CON	0.95 (0.0)	1.11 (0.0) ‡	0.92 (0.1)
	LIDO	0.86 (0.1)	0.87 (0.1)	0.74 (0.0) ‡
ANOVA		.073	.042 (*, &)	.182
BAX (D.O)	SHAM	1.14 (0.1)	1.25 (0.1)	1.11 (0.0)
	CON	1.14 (0.1)	1.81 (0.0) ‡	1.51 (0.1) ‡ ¥
	LIDO	1.15 (0.1)	1.19 (0.0)	1.22 (0.1)
ANOVA		.989	.000 (*, &)	.001 (*, &)
BCL2 (D.O)	SHAM	1.07 (0.1)	1.09 (0.1)	1.03 (0.1)
	CON	0.99 (0.1)	0.54 (0.0) ‡	0.93 (0.1) ¥
	LIDO	0.96 (0.1)	1.64 (0.1) ‡	1.22 (0.1) ¥
ANOVA		.804	.000 (*, &, #)	.109

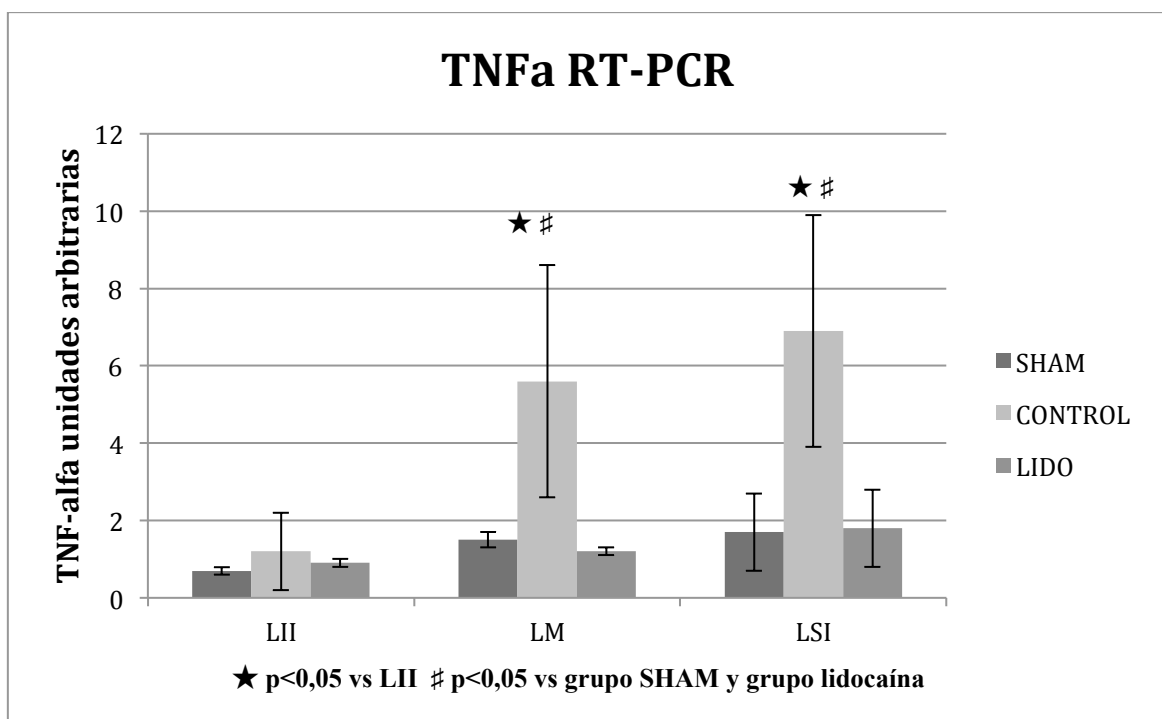
Datos expresados como media (desviación estándar: SD). LII: Lóbulo inferior izquierdo, LM: Lóbulo mediastínico,

LSI: lóbulo superior izquierdo. CON: Control. LIDO: Lidocaína. uu.aa: Unidades arbitrarias. D.O: Densidades ópticas. CON vs SHAM (*). CON vs LIDO (&). SHAM vs LIDO (#). p<0.05 vs LII (‡). p<0,05 vs LSI (¥).

4.2.3.1 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

Los niveles de mRNA de TNF- α de los animales del grupo SHAM y lidocaína permanecen sin modificaciones tanto en el pulmón ventilado como en el colapsado, mientras que existe un aumento estadísticamente significativo en los niveles de mRNA de TNF- α en el grupo control en ambos pulmones este aumento es estadísticamente significativo al compararlo con el grupo lidocaína y con el grupo SHAM (gráfico 12, tabla 8).

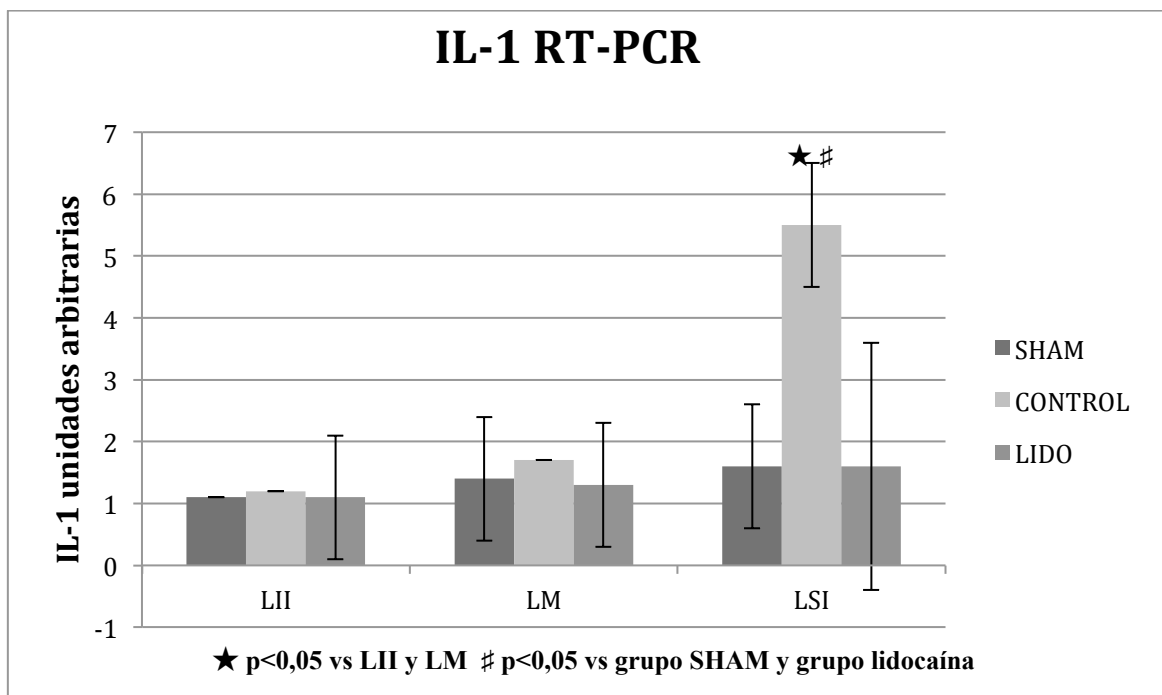
Gráfico 12. Expresión de mRNA de factor de necrosis tumoral α (TNF- α) obtenidos en biopsias pulmonares



4.2.3.2 Interleuquina 1 (IL-1)

En los animales del grupo lidocaína y del grupo SHAM no se modificaron los niveles de mRNA de IL-1 en ninguno de los dos pulmones durante el experimento. Mientras que se observó un aumento significativo de los niveles de mRNA de IL-1 en el pulmón no ventilado en el grupo control respecto al grupo SHAM y al grupo de lidocaína (gráfico 13, tabla 8).

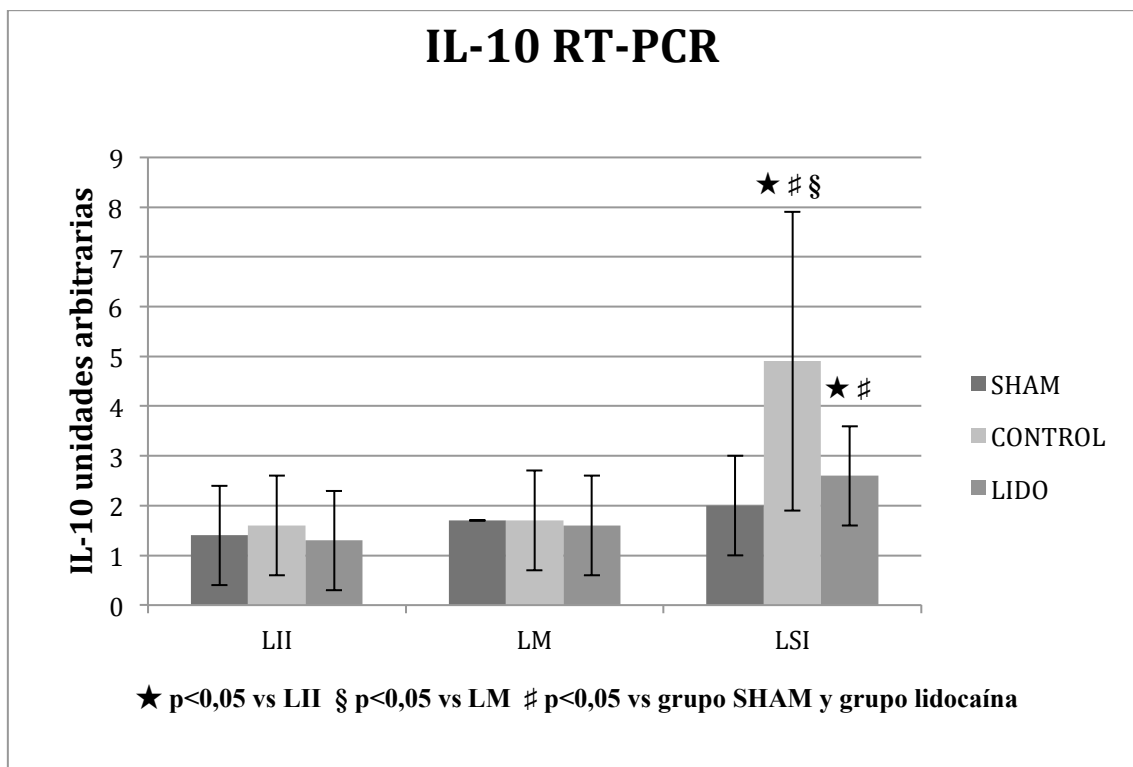
Gráfico 13. Expresión de mRNA de interleuquina 1 (IL-1) obtenidos en biopsias pulmonares



4.2.3.3 Interleuquina 10 IL-10

En los animales del grupo SHAM los niveles de mRNA de IL-10 no se modificaron durante el experimento. Mientras que los niveles de este marcador aumentaron durante la cirugía en el pulmón no ventilado y son significativamente mayores en el grupo control y en el grupo lidocaína en comparación con el grupo SHAM. Sin embargo, en el grupo de lidocaína los niveles son significativamente menores que en el grupo control (gráfico 14, tabla 8).

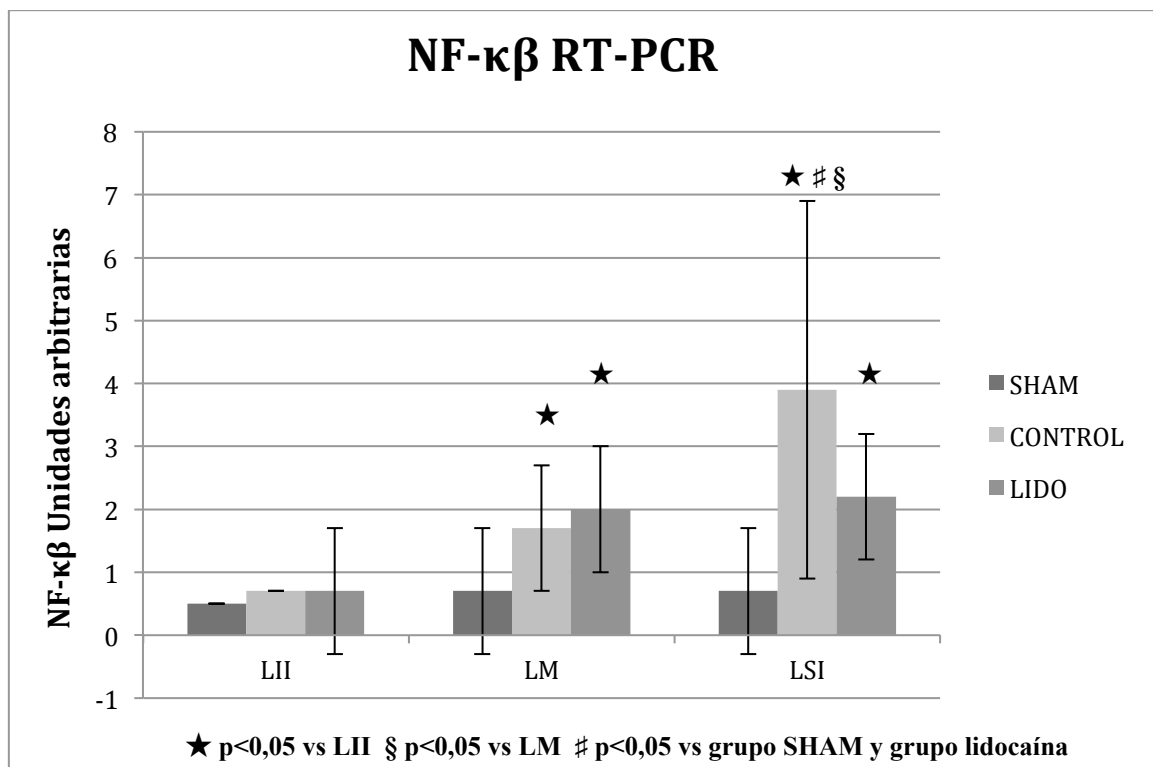
Gráfico 14. Expresión de mRNA de interleuquina 10 (IL-10) obtenidos en biopsias pulmonares



4.2.3.4 Factor Nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$)

En los animales del grupo SHAM no se modificaron los niveles de mRNA de NF- $\kappa\beta$ durante todo el experimento. Mientras que los niveles de mRNA de NF- $\kappa\beta$ aumentan durante la cirugía en ambos pulmones y son significativamente mayores en el grupo control y en el grupo lidocaína en comparación con el grupo SHAM. Sin embargo, en el pulmón no ventilado del grupo de lidocaína los niveles son significativamente menores que en el grupo control (gráfico 15, tabla 8).

Gráfico 15. Expresión de mRNA de factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) obtenidas en biopsias pulmonares

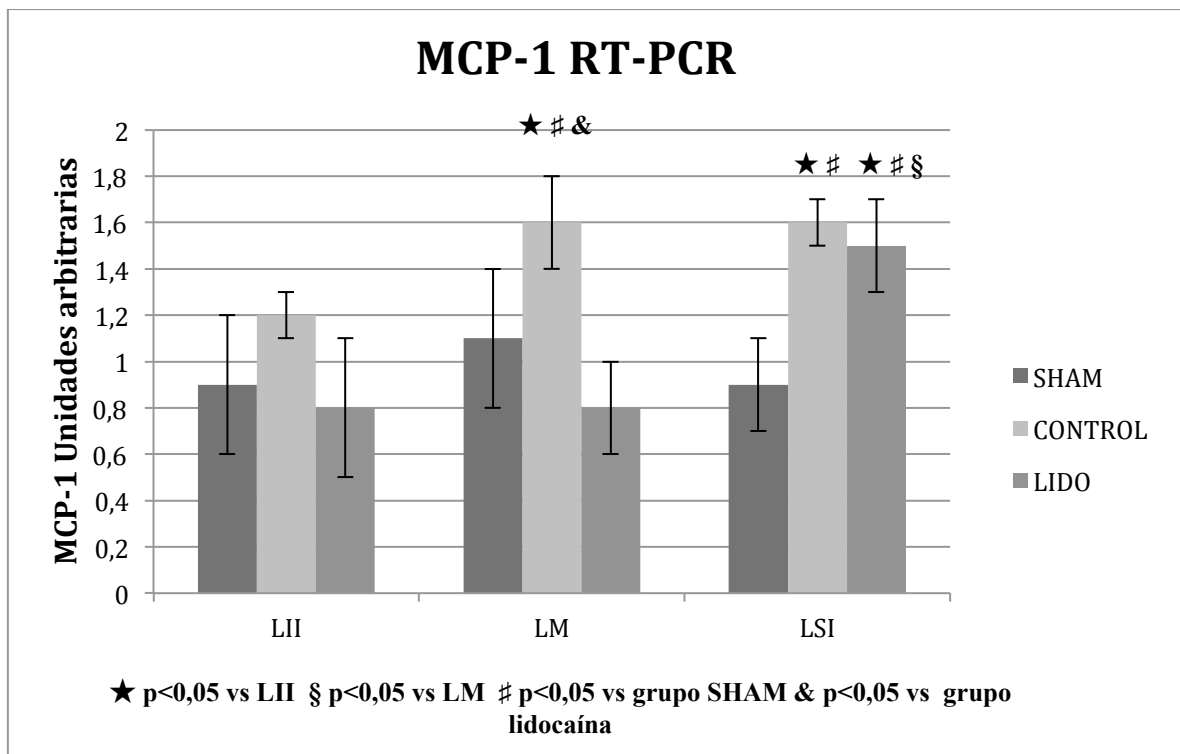


4.2.3.5 Proteína quimiotáctica de monocitos MCP-1

Los niveles de MCP-1 no se modificaron durante todo el procedimiento en el grupo SHAM. Sin embargo, en el grupo control los niveles de mRNA de MCP-1 aumentan durante el experimento en ambos pulmones y son significativamente mayores que en el grupo SHAM. A su vez, en el pulmón ventilado del grupo control los niveles de MCP-1 son significativamente mayores que en el grupo lidocaína.

En el grupo de lidocaína en el pulmón no ventilado los niveles son significativamente mayores que en el grupo SHAM y también mayores que el pulmón no ventilado del mismo grupo (gráfico 16, tabla 8).

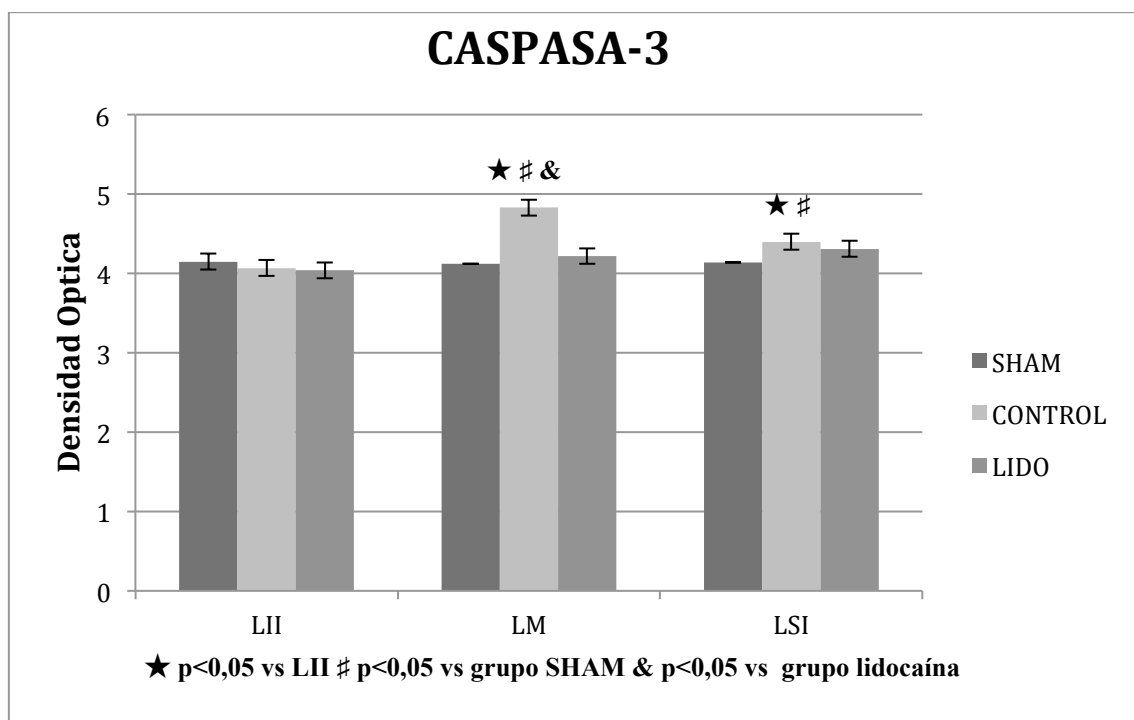
Gráfico 16. Expresión de mRNA de proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) obtenidos en biopsias pulmonares



4.2.3.6 Caspasa 3

En los animales del grupo SHAM y del grupo lidocaína la actividad de caspasa 3 no se modificó durante el experimento. Mientras que la actividad de caspasa 3 aumenta durante la cirugía en el grupo control tanto en el pulmón ventilado como en el colapsado y es significativamente más alta que en el grupo SHAM en ambos pulmones y significativamente mayor que en el grupo de lidocaína en el pulmón ventilado (gráfico 17, tabla 8).

Gráfico 17. Actividad de caspasa 3 obtenidos en biopsias pulmonares

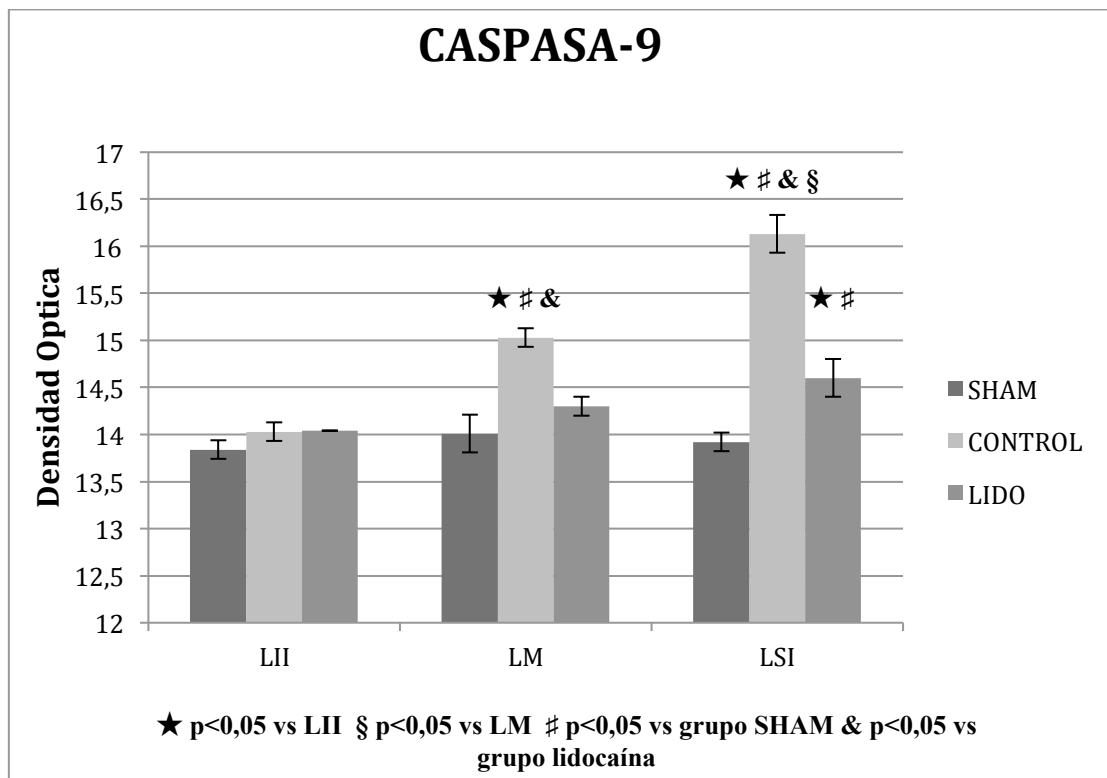


4.2.3.7 Caspasa 9

La actividad de caspasa 9 no se modificó en ninguno de los dos pulmones durante el experimento en el grupo SHAM. Mientras que aumentó durante la cirugía en el grupo control en el que es significativamente más alta que en los del grupo de lidocaína y el grupo SHAM en ambos pulmones.

Además la actividad de caspasa 9 en los animales del grupo de lidocaína es significativamente mayor en el pulmón no ventilado que en el ventilado y al compararlo con los del grupo SHAM también muestra actividad significativamente mayor (gráfico 17, tabla 8).

Gráfico 18. Actividad de caspasa 9 obtenidos en biopsias pulmonares

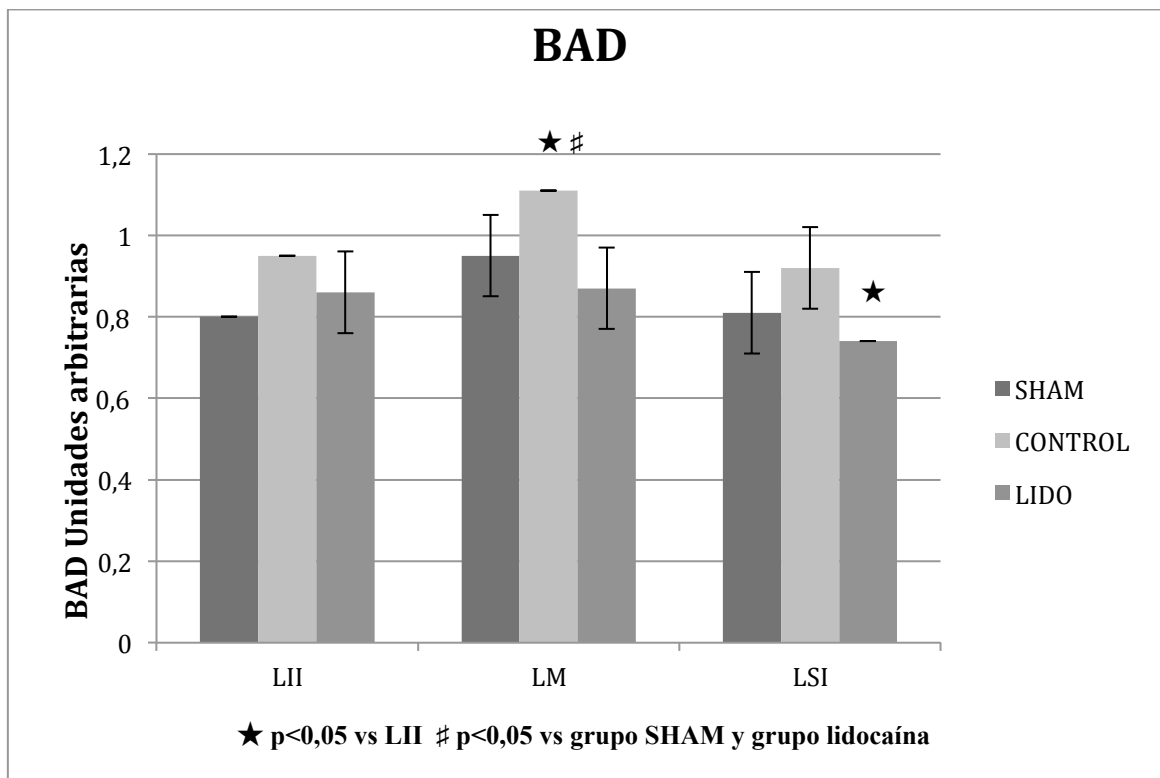


4.2.3.8 Proteína BAD

La expresión de mRNA de la proteína BAD no se modificó durante el experimento en los animales del grupo SHAM. Mientras que la expresión de esta aumentan durante el experimento en el pulmón ventilado del grupo control y son significativamente mayores que la expresión en el grupo de lidocaína y el grupo SHAM.

Por otro lado, en el grupo de lidocaína la expresión de BAD disminuye durante el experimento en el pulmón no ventilado, aunque no muestran diferencias significativas al compararlo con los animales de los otros dos grupos (gráfico 19, tabla 8).

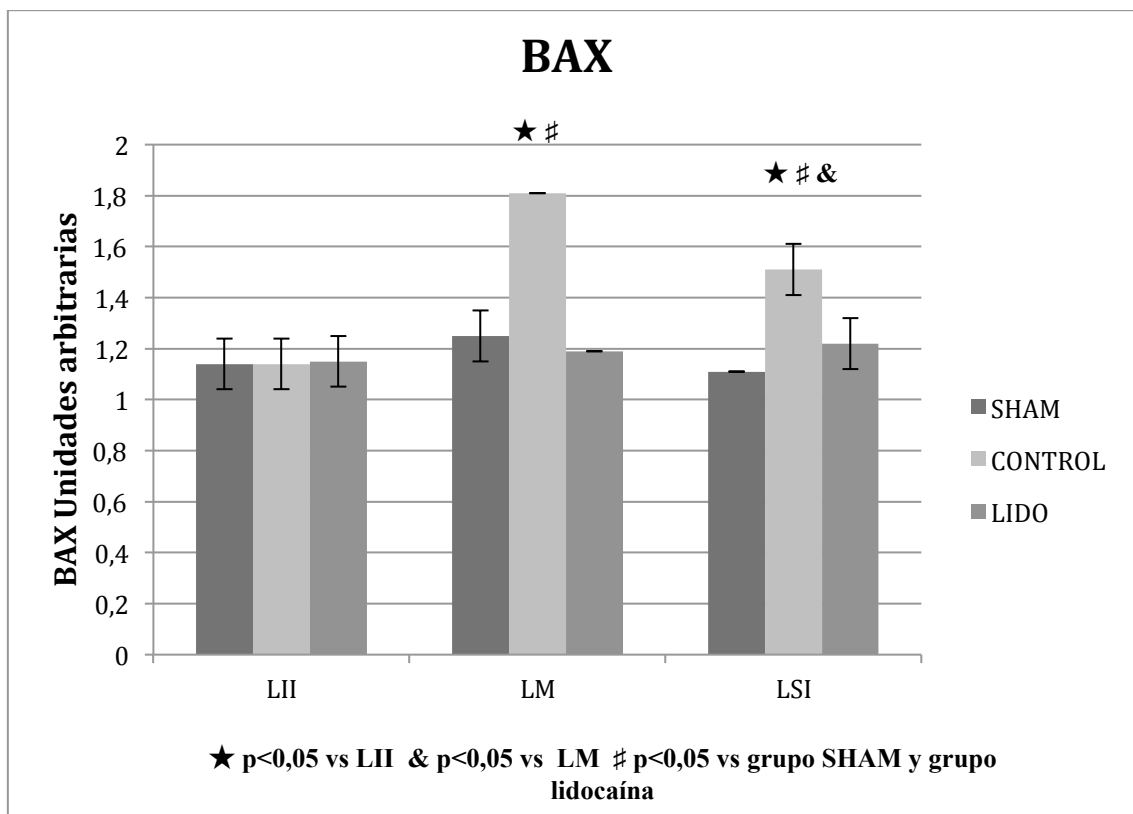
Gráfico 19. Expresión de mRNA de BAD obtenidas en biopsias pulmonares



4.2.3.9 Proteína BAX

En los animales del grupo SHAM y en los del grupo de lidocaína la expresión de mRNA de la proteína BAX no se modificó durante el experimento. Mientras que los mismos aumentan durante la cirugía en el grupo control tanto en el pulmón ventilado como en el colapsado y al comparar la expresión con los otros dos grupos, se observan diferencias estadísticamente significativas tanto en el grupo SHAM como en el grupo de lidocaína (gráfico 20, tabla 8).

Gráfico 20. Expresión de mRNA de BAX obtenidos en biopsias pulmonares



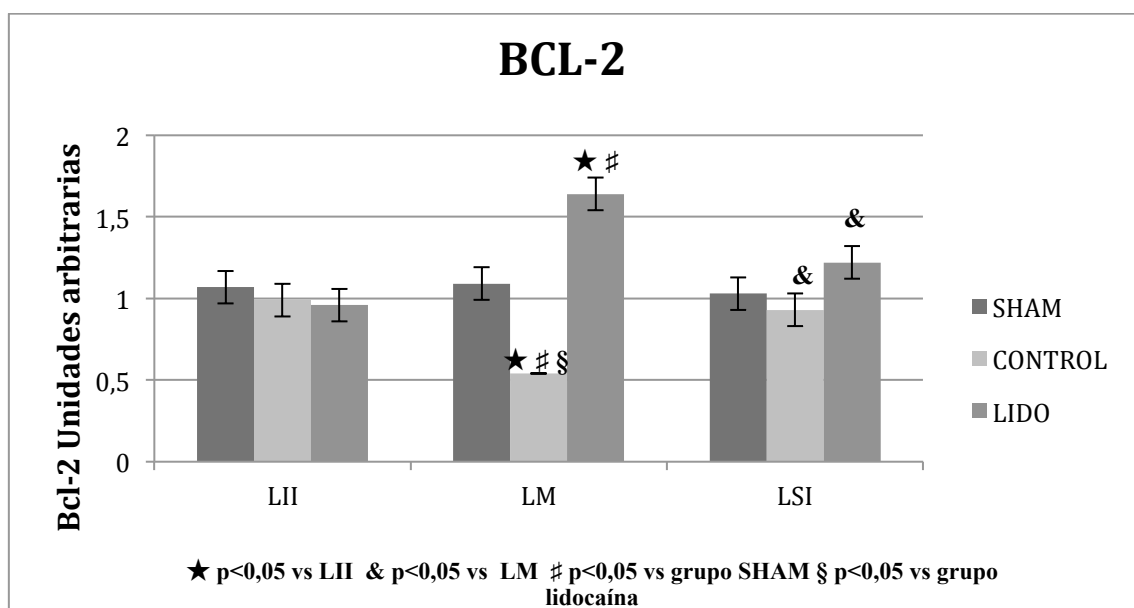
4.2.3.10 Proteína Bcl-2

En los animales del grupo SHAM la expresión de mRNA de Bcl-2 no se modificaron durante todo el experimento.

En el grupo control se observa una disminución significativa de los niveles de Bcl-2 en el pulmón ventilado al compararlo con los niveles basales y los niveles del pulmón no ventilado de ese mismo grupo. Además, al compararlos con los del grupo SHAM y los del grupo lidocaína, observamos que también son significativamente menores que los de estos.

Mientras que los niveles de Bcl-2 en el grupo de lidocaína aumentan en los dos pulmones durante el experimento y son significativamente mayores que los del grupo SHAM en el pulmón ventilado (gráfico 21, tabla 8).

Gráfico 21. Expresión de mRNA de Bcl-2 obtenidos en biopsias pulmonares



4.2.4 ÓXIDO NÍTRICO (NO)

Tabla 9. Metabolismo del NO obtenidos en Sangre y Lavado Broncoalveolar.

GRUPO		BASAL	OLV+120	TLV+60	24 H
		media (SD)	media (SD)	media (SD)	media (SD)
SHAM		41.1 (9)	40.2 (5)	38.8 (6)	38.2 (3)
NO µg/µl	CON	41.6 (6)	35.0 (3)	28.1 (9) ‡	23.4 (8) ‡
(Sangre)	LIDO	41.4 (4)	36.3 (5)	31.2 (5) ‡	34.9 (5)
ANOVA		.993	.175	.049 (*)	.001 (*,&)
SHAM		22.4 (4)	25.7 (4)	23.7 (3)	24.3 (3)
NO µg/µl	CON	20.3 (6)	13.2 (2) ¥	15.6 (3) ¥	13.7 (3) ¥
(LBA)	LIDO	21.3 (5)	26.1 (10)	23.4 (3)	22.5 (6)
ANOVA		0,742	0,005 (*,&)	0,001 (*,&)	0,001 (*,&)

Datos expresados como media (desviación estándar: SD). OLV: Ventilación unipulmonar; TLV: Ventilación bipulmonar. CON: Control. LIDO: Lidocaína. CON vs SHAM (*). CON vs LIDO (&). SHAM vs LIDO (#). p<0.05 vs Basal (‡). p<0.05 vs Basal (¥).

Tabla 10. Actividad de nitrato sintetas obtenidas de Biopsias Pulmonares.

GRUPO		LII	LM	LSI
		media (SD)	media (SD)	media (SD)
SHAM		0.7 (0)	1.3 (0)	0.8 (0)
iNOS	CON	0.7 (0)	1.4 (1)	7.0 (2) ‡ ¥
(nmol/mL)	LIDO	0.8 (0)	1.1 (0)	6.2 (4) ‡ ¥
ANOVA		.602	.790	.003 (*, #)
SHAM		1.33 (0.1)	1.40 (0.2)	1.45 (0.1)
eNOS	CON	1.37 (0.1)	1.18 (0.1)	1.38 (0.0)
(nmol/mL)	LIDO	1.27 (0.1)	1.43 (0.1)	1.79 (0.1) ‡ ¥
ANOVA		.854	.333	.001 (&,#)

LII: Lóbulo inferior izquierdo, LM: Lóbulo mediastínico, LSI: lóbulo superior izquierdo. CON vs SHAM (*). CON vs LIDO (&). SHAM vs LIDO (#). p<0.05 vs LII (‡). p<0,05 LM vs LSI (¥).

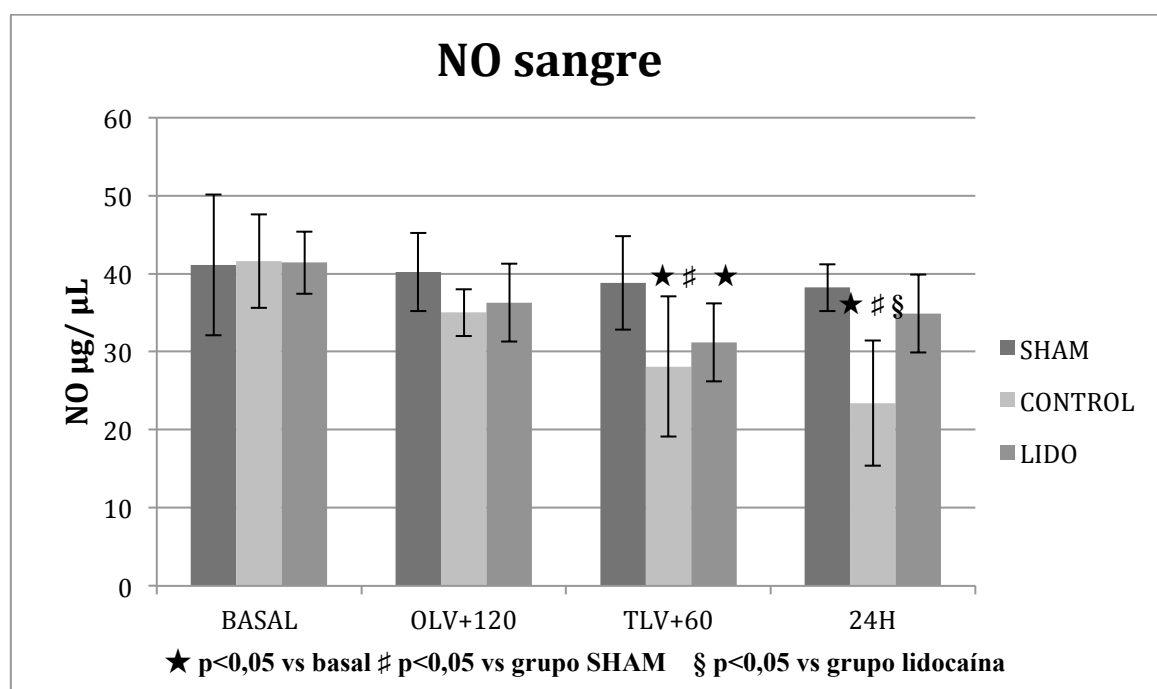
4.2.4.1 Óxido Nítrico NO

En el grupo SHAM no existieron variaciones en los niveles de NO en sangre durante todo el procedimiento.

Los niveles de NO obtenidos sangre del grupo control disminuyeron a los 60 minutos de reiniciar la ventilación bipulmonar (TLV+60) y a las 24 horas de la cirugía (24H). Además estos son significativamente menores que los niveles del grupo SHAM a los 60 minutos de reiniciar la ventilación bipulmonar (TLV+60) y a las 24 horas posteriores a la cirugía, y también significativamente menores que los del grupo de lidocaína a las 24 horas de la cirugía (24H).

Los niveles de NO en sangre en el grupo de lidocaína son menores que los niveles basales a los 60 minutos de reiniciar la ventilación bipulmonar (TLV+60) pero al compararlo con los niveles del grupo SHAM, no presente significancia estadística (gráfico 22, tabla 9).

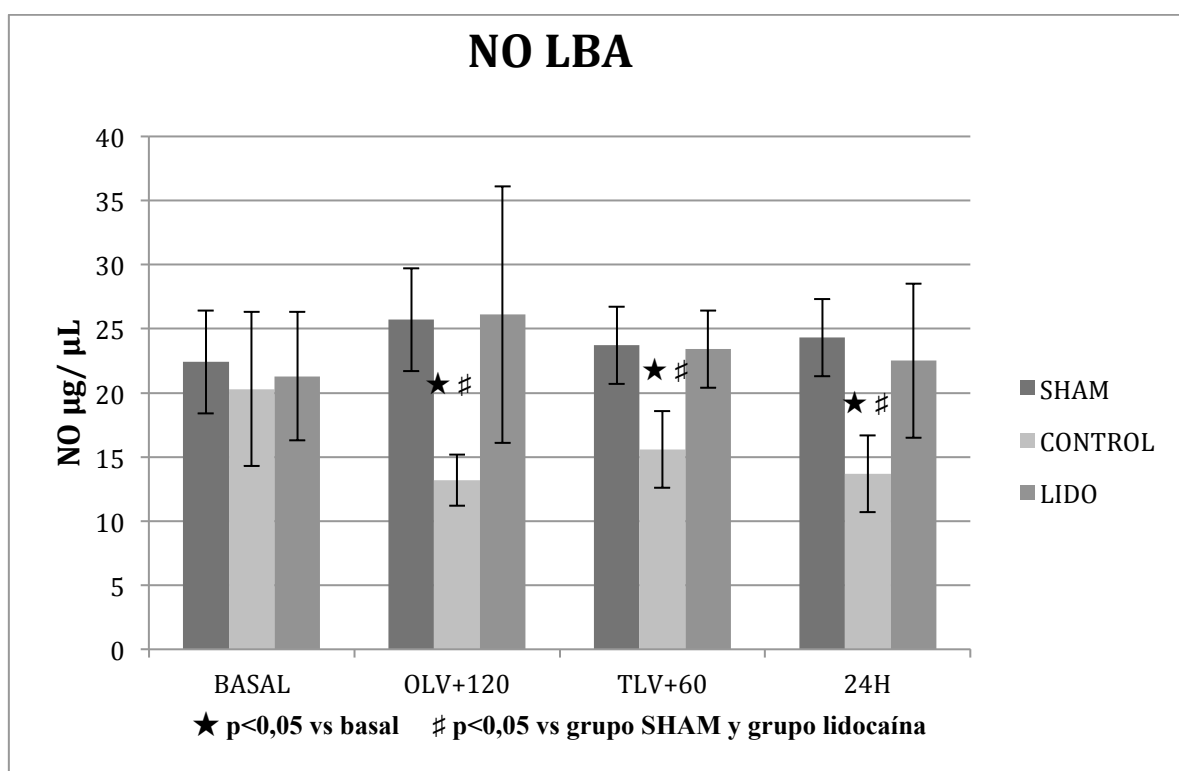
Gráfico 22. Niveles de NO obtenidos en sangre



En el grupo SHAM y en el grupo lidocaína no existieron variaciones en los niveles de NO en los LBA durante todo el procedimiento.

Los niveles de NO obtenidos en LBA del grupo control disminuyeron a los 120 minutos de iniciada la VUP y se mantuvieron así durante todo el experimento. Además al compararlos con el grupo SHAM y lidocaína los niveles son significativamente menores que en estos dos grupos (gráfico 23, tabla 9).

Gráfico 23. Niveles de NO obtenidos en LBA

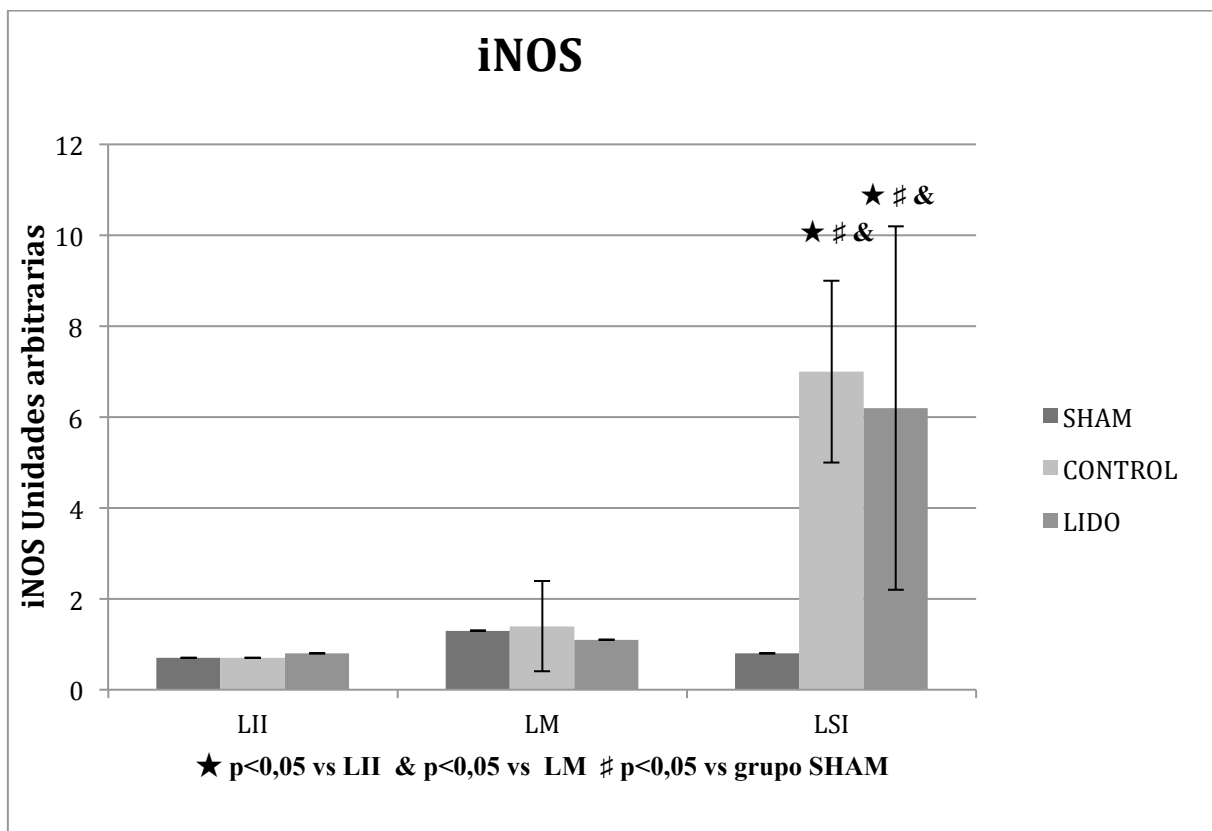


4.2.4.2 iNOS

La expresión de mRNA de iNOS en el grupo SHAM no se modificó durante todo el experimento.

Mientras que la expresión de mRNA de iNOS aumentó durante el experimento en el pulmón no ventilado en los grupos de lidocaína y control, observándose un aumento significativo respecto al grupo SHAM (gráfico 24, tabla 10).

Gráfico 24. Expresión de mRNA de iNOS obtenidos en biopsias pulmonares

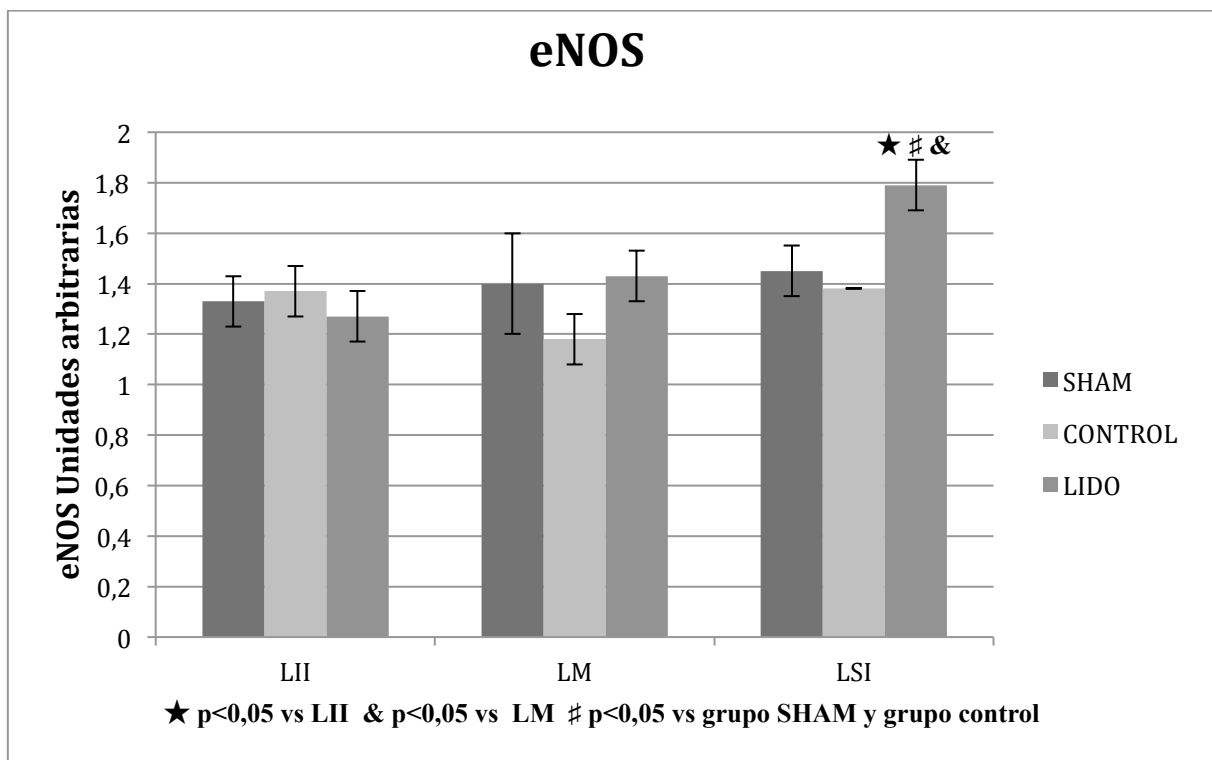


4.2.4.3 eNOS

La expresión de mRNA de eNOS en el grupo SHAM y en el grupo control no se modificó durante todo el experimento.

Mientras que la expresión de mRNA de eNOS en el pulmón no ventilado del grupo de lidocaína aumentó durante el experimento y son significativamente mayores que en el grupo SHAM y que en el grupo control (gráfico 25, tabla 10).

Gráfico 25. Expresión de mRNA de eNOS obtenidos en biopsias pulmonares

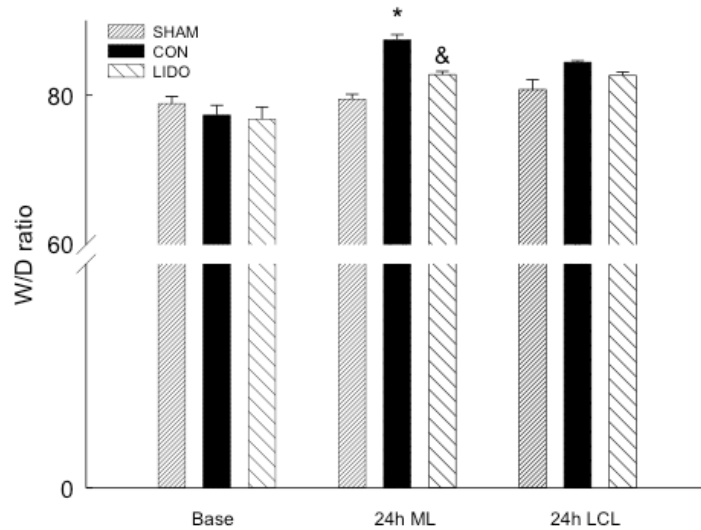


4.2.5 EDEMA PULMONAR

En el lóbulo pulmonar del pulmón colapsado no existieron diferencias significativas entre el uso de lidocaína y el grupo control, aunque si existe una tendencia a un aumento del edema comparado con el grupo SHAM y que es mayor en el grupo control que en el que recibió lidocaína (gráfico 26).

Mientras que en el lóbulo pulmonar del pulmón ventilado se observó un aumento del edema respecto a los niveles basales, este aumento es significativo estadísticamente al compararlo con los grupos SHAM y lidocaína (gráfico 26).

Gráfico 26. Edema Pulmonar obtenido de muestras de biopsias.



CON: CONTROL. LIDO: Lidocaína. BASE: Basal, ML: Lóbulo mediastínico (ventilado durante OLV), LCL: Lóbulo superior izquierdo (no ventilado durante OLV). $p < 0.003$ CON vs SHAM (*). $p < 0.003$ LIDO vs CON (&).

5 DISCUSIÓN

En nuestro modelo experimental, la lidocaína ha demostrado un efecto protector al disminuir la formación de edema durante la cirugía de resección pulmonar, mediado por la disminución de la producción y liberación sistémica de mediadores inflamatorios, así como la regulación de otros mecanismos de daño celular como la vía del NO y de la apoptosis.

Diversos autores han reportado en estudios clínicos que durante la cirugía torácica se produce una activación de la respuesta inflamatoria que se asocia a una elevación alveolar y sistémica de citoquinas, moléculas de adhesión y células inflamatorias (70,131,136), en concordancia con estos datos, hemos observado que durante la lobectomía existe un aumento en la producción y liberación sistémica de mediadores inflamatorios secundario a la cirugía de resección pulmonar, que no ocurre en los animales del grupo SHAM (sometidos únicamente a toracotomía), pero sí en los otros dos grupos y que además se acompaña, de edema, en el pulmón ventilado lo que reafirma la presencia de cierto grado de daño pulmonar. La administración intravenosa de lidocaína ha demostrado un efecto frente al daño pulmonar en nuestro modelo experimental.

Diferentes estrategias han sido descritas para reducir el daño pulmonar en cirugía torácica. La utilización de estas herramientas van dirigidas a disminuir la elevada morbilidad asociada a este tipo de intervenciones que se relacionan fundamentalmente con una exagerada respuesta inflamatoria pulmonar y sistémica. El uso de ventilación protectora, la asociación de técnicas regionales para la analgesia, evitar concentraciones elevadas de oxígeno y un adecuado uso perioperatorio de fluidos han sido claves para mejorar el pronóstico de los pacientes sometidos a este tipo de cirugías. Pero hasta la actualidad no se habían realizado investigaciones que hubieran

demostrado el efecto protector de la administración de lidocaína IV en el daño pulmonar producido por este tipo de cirugías.

Por otro lado la traslación de la investigación experimental a la clínica debe ser hecha en los casos en los que se demuestre la utilidad biológica y que sea seguro para nuestros pacientes.

5.1.1 PARÁMETROS RESPIRATORIOS

Una de las principales preocupaciones de los anestesiólogos durante la cirugía torácica es el mantenimiento de una adecuada oxigenación arterial durante los períodos de VUP. Así pues cualquier tratamiento que se utilice durante las mismas debe evaluar este delicado aspecto. En nuestro modelo experimental hemos observado que la administración de lidocaína en perfusión continua IV a las dosis utilizadas, no afecta la oxigenación arterial durante la ventilación unipulmonar.

En la literatura únicamente existen referencias de un estudio clínico que utiliza una perfusión IV de lidocaína en cirugía con ventilación unipulmonar, Cui y cols. evalúan el efecto del fármaco únicamente para el control analgésico, encontrando mejores resultados que con la analgesia convencional, sin analizar lo que ocurre con los valores hemodinámicos o respiratorios durante su uso (483). Sin embargo, existen resultados clínicos contradictorios respecto al uso de AL en perfusión epidural en el que podemos suponer que existe cierto grado de absorción sistémico. Garutti y cols. en pacientes sometidos a toracotomías por cáncer de pulmón con anestesia total IV vs anestesia IV junto con perfusión de AL epidural, observaron una disminución de la PaO₂ en el grupo que recibió el AL, por un mecanismo no aclarado pero que pudiera implicar la inhibición parcial de la VPH en el pulmón colapsado por un bloqueo

simpático torácico con el consecuente aumento del shunt (484). En contraposición, Von Dossow y cols. también en cirugía torácica compara pacientes con anestesia total IV vs anestesia inhalatoria con perfusión de AL epidural observando una PaO₂ significativamente menor en el primer grupo, presuntamente secundaria a un aumento en el gasto cardíaco y el shunt durante la VUP (485). Aunque en nuestro modelo no hemos medido directamente el shunt intrapulmonar, y el tamaño muestral impide extraer conclusiones definitivas al respecto, sí que hemos observado los parámetros relacionados con su cálculo, los cuales no se modificaron durante la intervención con la perfusión del AL. Paralelamente, hemos evaluado las presiones en la vía aérea, las cuales, como era de esperar, no se modificaron significativamente entre los grupos que recibieron VUP. Un aspecto llamativo de nuestra investigación es la inexistencia de alteraciones en la oxigenación arterial a las 24 horas de la cirugía entre los animales que mostraron una mayor respuesta inflamatoria y un mayor edema pulmonar, una posible explicación a este respecto es que podemos estar ante etapas tempranas del cuadro fisiopatológico, y que las alteraciones en la oxigenación ocurran posteriormente, en este sentido Le Tourneau y cols. concuerdan en que un parámetro aislado como el ELWI puede predecir a los pacientes que más adelante presentarán alteraciones en la oxigenación arterial con daño pulmonar (486).

Hasta nuestro conocimiento, este modelo representa la primera evidencia de que una perfusión de lidocaína IV no afecta los valores de oxigenación en cirugía de tórax con ventilación unipulmonar.

5.1.2 PARÁMETROS CARDIOVASCULARES

También la situación hemodinámica es una preocupación fundamental para los anestesiólogos durante la cirugía de tórax debido a las importantes variaciones que pueden ocurrir durante este tipo de intervenciones y su repercusión sobre otros órganos. En nuestro estudio, hemos observado que con la lidocaína en perfusión continua IV a las dosis utilizadas, no se alteran los valores hemodinámicos durante la cirugía de resección pulmonar.

A pesar de que no medimos la concentración plasmática de lidocaína, estudios anteriores en humanos y animales han demostrado que utilizando estas dosis no se alcanzan concentraciones plasmáticas tóxicas, siendo estas siempre inferiores a 5 ug/ml (441,451,453,455). Las dosis empleadas en nuestro modelo, son consideradas seguras en la práctica clínica en la que han demostrado no alterar la situación hemodinámica cuando son mantenidas por períodos de hasta 48 horas (441,483). Los mismos resultados han sido observados en estudios experimentales en animales (451,453,455,456,462).

Los estudios clínicos y experimentales en los que se evalúa el efecto hemodinámico de perfusiones IV de AL se enfocan fundamentalmente en dos puntos de vista. Unos evalúan el efecto de dosis crecientes de AL para estudiar las concentraciones tóxicas del mismo y los mecanismos que pueden contrarrestarlos, mientras que otros grupos estudian el efecto hemodinámico consecuencia de la disminución de la hiperestimulación simpática por su papel analgésico en las cirugías. En cualquier caso, no contamos con datos en la literatura del efecto de la lidocaína IV sobre los valores hemodinámicos durante la cirugía de resección pulmonar con VUP y hemos considerado importante su análisis, ya que su uso a altas dosis ha demostrado modificar el inotropismo, cronotropismo y el sistema de conducción cardíaco así como

producir una disminución en la presión arterial (469,478), además durante la cirugía con VUP pueden ocurrir modificaciones hemodinámicas secundarias al aumento momentáneo de la presión arterial pulmonar por la VPH sobre las cavidades derechas o en ocasiones al uso de niveles elevados de PEEP (para mantener una adecuada oxigenación) que pueden modificar el volumen latido, el gasto cardíaco y el shunt intrapulmonar (487). Lo cual remarca la importancia de nuestros hallazgos. La monitorización invasiva empleada para la medición de valores hemodinámicos en nuestro modelo (habitualmente no utilizada en la práctica clínica) nos hace creer que las dosis de lidocaína IV poseen un alto grado de seguridad desde el punto de vista hemodinámico. Hasta donde sabemos, este modelo representa también la primera evidencia del efecto de la perfusión de lidocaína IV durante la ventilación unipulmonar en cirugía de tórax sobre los valores hemodinámicos.

5.2.1 BIOMARCADORES SISTÉMICOS

Hemos observado en nuestro modelo que la cirugía de resección pulmonar aumenta los niveles sanguíneos de TNF- α . Durante la cirugía torácica diversos autores han confirmado una elevación de las citoquinas proinflamatorias sistémicas. Además se ha demostrado que cirugías menos invasivas, se acompañan de menor elevación de citoquinas proinflamatorias al compararlas con su homónima abierta, como es el caso de la cirugía laparoscópica (488) o en cirugía por toracoscopia. En este sentido, Yim y cols. en un estudio prospectivo de pacientes sometidos a toracotomía vs cirugía por toracoscopia reportan una elevación significativamente mayor de citoquinas sistémicas que ocurre en el intraoperatorio y que se mantiene durante al menos 48 horas en el grupo sometido a cirugía convencional (131), estos hallazgos son similares a los

descritos por Nagahiro y cols. en el mismo contexto, reafirmando una mayor elevación en los niveles sistémicos de citoquinas proinflamatorias durante la cirugía abierta (133). Sumado a esto, Whitson y cols. han encontrado en una revisión sistemática con análisis de 39 estudios prospectivos aleatorizados de lobectomías en cáncer de pulmón de células no pequeñas estadios I-II que la cirugía toracoscópica disminuye el dolor, el tiempo con el drenaje torácico, el tiempo de ingreso hospitalario y la mortalidad a 4 años en comparación con la cirugía abierta (134). Aunque no se ha demostrado una relación de causalidad entre las alteraciones inmunológicas y las complicaciones postoperatorias, existe evidencia suficiente que demuestra una inmunosupresión secundaria a la cirugía que puede justificar en parte los resultados de esta revisión y que se correlaciona con el grado de agresión quirúrgica. En este sentido, Yamahuchi y cols. han encontrado una mayor alteración de la respuesta inmunológica (elevación de citoquinas proinflamatorias, linfopenia, neutrofilia, etc.) en cirugías más agresivas (esofagectomías y lobectomías) en comparación con cirugías menos agresivas (mastectomías o colecistectomías laparoscópicas) (489). De esto podemos inferir que los mecanismos que logren disminuir la alteración de la respuesta inflamatoria secundaria a la cirugía se acompañaran de mejores índices de morbilidad y mortalidad postoperatoria.

En nuestro modelo experimental, la lidocaína ha demostrado disminuir los niveles locales y sistémicos de TNF- α secundarios a la cirugía de resección pulmonar. Durante el experimento observamos un aumento de los niveles de TNF- α más precozmente y de mayor importancia en los LBA y posteriormente en sangre, este aumento es parcialmente inhibido con el uso de lidocaína.

La lidocaína puede lograr esta inhibición modulando la respuesta inflamatoria de múltiples formas según ha sido descrito por diversos autores. A nivel intracelular: Lahat

y cols. demostraron en cultivos celulares de células T que la lidocaína, a concentraciones clínicamente relevantes, reduce de forma dosis dependiente los niveles de mRNA de TNF- α lo cual indica que la disminución de la secreción de TNF- α ocurre a nivel transcripcional inhibiendo la expresión de mRNA, por un mecanismo no del todo determinado pero que se debe al menos en parte a la inhibición de la translocación nuclear de NF- κ B (393). El paso de NF- κ B al núcleo regula la activación de la transcripción de gran cantidad de genes proinflamatorios incluyendo TNF- α .

Papavlassopoulos y cols. han demostrado que canales específicos de potasio (maxiK) inician la vía de señalización de NF- κ B y que el bloqueo farmacológico de estos canales impide la degradación de I κ B y la posterior translocación nuclear de NF- κ B, subrayando así el papel central que tienen estos canales en esta vía de señalización (490).

Mientras que Kindler y cols. han demostrado que los anestésicos locales de tipo amida pueden bloquear estos canales de potasio (491), lo cual puede formar parte de uno de los mecanismo intracelulares de inhibición de la lidocaína sobre la síntesis de TNF- α .

Otro mecanismo intracelular que puede estar implicado en la disminución de la síntesis y liberación de TNF- α es a través de la atenuación de la activación de la MAPK “p38”, que al igual que NF- κ B aumenta la expresión de variedad de citoquinas proinflamatorias, dicha atenuación puede ser secundaria a una disminución de las concentraciones de calcio intracelular como lo demuestran Su y cols. en cultivos celulares (492).

Mientras que a nivel extracelular, la lidocaína es capaz de disminuir la quimiotaxis de monocitos que es la principal célula inmunológica que sintetiza TNF- α por lo que disminuirá su formación local. La lidocaína puede lograr este efecto a través

de una disminución en los niveles de MCP-1 de forma dosis dependiente como lo demuestra Li y cols. en cultivos celulares de monocitos humanos donde la lidocaína disminuye la expresión de mRNA de MCP-1 lo que sugiere una inhibición de su formación a nivel transcripcional también secundaria a una disminución de la concentración intracelular de calcio (394). La MCP-1 no solo actúa como quimiotáctico de monocitos, sino además es un conocido activador de sus funciones, que aumenta la síntesis y liberación de diversas citoquinas en el proceso inflamatorio (493–495).

En resumen, la lidocaína no solo es capaz de disminuir la quimiotaxis de monocitos sino también su activación todo lo cual contribuirá a la menor formación de TNF- α .

También hemos podido observar en nuestro modelo un aumento en los niveles de MMP-2 y MMP-9 más temprano y mayor en el LBA y posteriormente en sangre secundario a la cirugía. Al igual que lo que sucede con TNF- α , una elevación de las metaloproteinasas ha sido asociada al estrés quirúrgico, por lo que en cirugía mínimamente invasiva se observan valores sistémicos inferiores al compararla con la cirugía abierta (496). En cirugía de tórax en particular, Ng y cols. han comparado el abordaje por toracoscopia frente a toracotomía para la realización de lobectomías y han observado un menor aumento en los niveles de MMP-9 en la primera (497). Diversos mecanismos pueden modificar la transcripción celular de las MMP entre ellos se encuentran la regulación por citoquinas y la señalización y factores nucleares (498) entre las citoquinas capaces de aumentar la transcripción de MMP encontramos al TNF- α y la IL-1, mientras que entre las vías de señalización intracelular se encuentran la MAPK “p38” y el NF- $\kappa\beta$ (499).

Por otro lado, niveles elevados de MMP-9 se han asociado a una mayor aparición de metástasis en tumores pulmonares (500), bien sea como consecuencia de su

acción sobre las membranas basales o sobre factores de crecimiento similares a la insulina cuya ruta de señalización juega un papel clave en el cáncer (497,500). Otros autores han demostrado una elevación de MMP-2 y MMP-9 secundaria a un daño por isquemia reperusión en tejido pulmonar (501,502) y otros tejidos (503,504). De forma que existe clara evidencia que relacionan el aumento de MMP secundaria a la agresión quirúrgica y su asociación con la aparición de complicaciones postoperatorias.

En nuestro modelo experimental el aumento en los niveles de MMP es atenuado por la administración IV de lidocaína, lo cual puede contribuir al efecto protector del AL frente al daño pulmonar. Soccal y cols. han observado en un modelo experimental de trasplante pulmonar que el uso de inhibidores de MMP disminuye la infiltración de PMN, el daño de la membrana alveolo-capilar y mejora la oxigenación sanguínea demostrando de esta manera una atenuación del daño causado por isquemia reperusión (501).

En la literatura no hay estudios cuyo objetivo sea evaluar el efecto de los anestésicos locales sobre la producción de MMP, sin embargo, como ya se mencionó entre los mecanismos implicados en la activación de la transcripción de las MMP, encontramos la liberación de citoquinas proinflamatorias y vías de señalización intracelular sobre las cuales la lidocaína puede ejercer un papel inhibitorio.

Desde el punto de vista clínico y en concordancia con nuestro estudio otros autores han reportado una disminución en la concentración de algunas MMP al comparar una anestesia con propofol/paravertebral frente a sevoflurane/mórficos en cirugía de mama (505), lo cual puede ser parcialmente explicado por la absorción sistémica del AL que ocurre con los bloqueos paravertebrales.

Hasta nuestro conocimiento este es el primer estudio que demuestra una atenuación en la formación de MMP asociada a la administración IV de lidocaína la cual puede tener beneficios clínicos importantes.

5.2.2 BIOMARCADORES EN LBA

Hemos observado en nuestro modelo que la cirugía de resección pulmonar aumenta los niveles de TNF- α en los LBA, posiblemente en relación con el daño producido por la ventilación unipulmonar, los fenómenos de isquemia reperusión y la agresión quirúrgica. Las fuerzas físicas ejercidas sobre las células alveolares durante la ventilación mecánica y la manipulación quirúrgica estimulan la síntesis y liberación local de citoquinas proinflamatorias (4,133), aunque bien es cierto que el mecanismo fisiopatológico a nivel molecular de este aumento no está del todo definido.

Los resultados en nuestro modelo experimental sugieren que en el compartimento pulmonar se inicia una respuesta proinflamatoria con liberación local de citoquinas que posteriormente se extienden al sistema sanguíneo, por el aumento en la permeabilidad alveolo-capilar, tal y como ha sido demostrado por varios autores. Entre ellos se encuentran Tutor y cols. y Haitsma y cols. ambos autores en modelos experimentales con ratas consiguen aumentar a nivel pulmonar la síntesis y liberación local de TNF- α al administrar lipopolisacárido intratraqueal, sin embargo esto no es suficiente para su paso en cantidades significativas al sistema sanguíneo, mientras que al agregar otro mecanismo de daño como la ventilación mecánica con presiones elevadas en la vía aérea, los autores consiguen la descompartmentalización pulmonar de TNF- α y su paso al compartimento vascular, por un mecanismo no del todo aclarado pero que depende del aumento de la permeabilidad vascular (130,506,507).

El aumento observado en los niveles de TNF- α en los LBA que se mantiene a las 24 horas del procedimiento es consecuencia de las diferentes agresiones ocurridas durante la cirugía. Múltiples modelos animales de daño pulmonar por hiperoxia, isquemia-reperfusión, ventilación mecánica, lipopolisacárido o ácido clorhídrico intratraqueal concuerdan con la elevación de esta citoquina en los LBA (244,506) cada uno de los cuales contribuye en parte a explicar lo ocurrido durante nuestro experimento.

El daño pulmonar se caracteriza por una liberación de citoquinas proinflamatorias, bien sea como consecuencia del trauma celular directo o secundario al estiramiento cíclico alveolar, ocurre un aumento de neutrófilos y macrófagos tisulares, disrupción de la membrana alveolo-capilar, con edema y depósito de proteínas en el espacio intersticial así como remodelación pulmonar y necrosis en etapas más avanzadas (508). El aumento inicial en la liberación local de citoquinas crea un estado proinflamatorio pulmonar que lo hace más vulnerable a daños subsecuentes por otros mecanismos.

Naidu y cols. encontraron en un modelo animal que el daño pulmonar por isquemia-reperfusión eleva los niveles de TNF- α en los LBA, al ser los macrófagos la principal célula productora de esta citoquina. Estos autores intentaron inhibir su actividad con gadolinio (un reconocido inhibidor de este tipo de células) y observaron que este es capaz de atenuar el daño pulmonar en este modelo experimental (509). Mientras que Chiumello y cols., Whitehead y cols. al igual que los mencionados Haitsma y cols. demuestran que una agresión pulmonar directa como la instilación intratraqueal de ácido clorhídrico o lipopolisacárido aumenta los niveles de TNF- α en los LBA pero que la ventilación mecánica añadida a esta agresión eleva estos niveles localmente y favorece su paso al sistema circulatorio, entre otras cosas porque la

ventilación mecánica aumenta el número de macrófagos alveolares incrementando la producción de TNF- α y otras citoquinas que aumentan la permeabilidad vascular (506,510,511).

A su vez Vaneker y cols. en un modelo animal con pulmones sanos demuestran que la ventilación mecánica *per se* (incluso la llamada “ventilación de protección”) aumenta los niveles pulmonares de TNF- α , pero que se trata de un proceso reversible si no se añade otro tipo de agresión pulmonar (512), todo lo cual sugiere que la ventilación mecánica puede empezar o amplificar la respuesta inflamatoria pulmonar que puede luego propagarse a nivel sistémico si se acompaña de otros tipos de agresiones. El daño pulmonar que ocurre en nuestro modelo experimental es consecuencia en mayor o menor medida a los diferentes tipos de daños demostrados por los diversos autores.

Durante la cirugía la ventilación mecánica puede iniciar la síntesis de citoquinas proinflamatorias, además la manipulación quirúrgica directa del tejido puede contribuir a este estado proinflamatorio, sumado al uso de la ventilación unipulmonar que con la consecuente VPH causará cierto grado de daño por isquemia reperusión, lo cual en conjunto puede explicar la elevación de citoquinas que hemos observado en los LBA.

Desde el punto de vista clínico Meduri y cols. han observado una elevación en los LBA de diversas citoquinas, entre las que se encuentra TNF- α , en los pacientes con SDRA. También han observado una elevación paralela pero menor, de los niveles sistémicos de citoquinas lo cual sugiere, aunque no demuestra, un origen pulmonar de las mismas (196). Además la disminución de la concentración de TNF- α en los LBA se acompaña de una mejoría en la permeabilidad alveolo-capilar (196) y la persistencia de cifras elevadas se asocia a un aumento en la mortalidad (197) todo lo cual apoya la teoría de que disminuyendo las concentraciones de citoquinas proinflamatorias

atenuaremos el daño pulmonar que irremediablemente ocurre durante la ventilación mecánica.

En nuestro modelo experimental hemos observado que la perfusión IV de lidocaína es capaz de disminuir la concentración de TNF- α , MMP-2 y MMP-9 en los LBA. Diversos autores han encontrado que el anestésico local atenúa el daño pulmonar en diferentes modelos animales. Nishina y cols. en un modelo de instilación intratraqueal de ácido clorhídrico concluyen que una perfusión IV de lidocaína disminuye el edema pulmonar y mejora la presión arterial de oxígeno secundaria a este daño porque disminuye la respuesta inflamatoria, al interferir en la migración de células al tejido pulmonar y la formación de citoquinas proinflamatorias (453). Resultados similares ha encontrado Schmid y cols. en otro modelo de daño por isquemia reperusión en los que la lidocaína disminuye el daño pulmonar secundario a una disminución en el número de células inflamatorias secuestradas en el pulmón (462). Otros AL también han sido asociados a este efecto inmunomodulador, Blumenthal y cols. en un modelo de daño pulmonar por endotoxemia han observado que la ropivacaina *in vivo* e *in vitro* atenúa la respuesta inflamatoria y el daño pulmonar asociado a una disminución del secuestro celular y los niveles de TNF- α y MCP-1 (454).

Además de la elevación de TNF- α en los LBA también hemos observado una elevación en los niveles MMP-2 y de MMP-9 moléculas que no solo pueden contribuir en la degradación de componentes de la matriz extracelular como la membrana basal, sino que también pueden contribuir en la regulación de la secreción y degradación de citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión (513).

Desde el punto de vista clínico, una elevación de los niveles de MMP-9 ha sido descrita por Lanchou y cols. en los LBA de pacientes con SDRA, el cual se correlaciona

con la gravedad de la enfermedad y que puede ser un factor predictivo de la evolución de la enfermedad (316).

Como ya se mencionó anteriormente, Yano y cols. han encontrado en un modelo animal de daño por isquemia reperfusión una elevación en la expresión de MMP-9 (502) mientras que Soccal y cols. en un modelo también de daño por isquemia reperfusión, han observado además de la elevación MMP-2 y MMP-9 asociada que el uso de inhibidores de MMP se acompañan de una atenuación del daño pulmonar con menor edema, infiltrado celular y mejoría en la oxigenación (501). De lo que se puede extrapolar que las terapias dirigidas a la regulación de la síntesis y secreción de estas moléculas pueden tener un efecto positivo en la prevención del daño pulmonar.

5.3 BIOPSIAS PULMONARES

Como ya hemos mencionado, el daño pulmonar en cirugía de tórax es multifactorial, ocurriendo un daño a nivel local tanto en el pulmón ventilado como en el colapsado que luego puede extenderse a otros órganos gracias a la liberación sistémica de diversos mediadores inflamatorios (130). En el pulmón ventilado varios mecanismos contribuyen a la formación de daño pulmonar, fundamentalmente la ventilación mecánica pero también la hiperoxia y el hiperaflujo pulmonar; mientras que en el pulmón colapsado el daño isquemia-reperfusión es el principal implicado junto a la manipulación quirúrgica del tejido. En nuestro modelo experimental hemos observado un patrón diferente en el aumento en los marcadores de la inflamación y el efecto que ejerce la lidocaína sobre el pulmón ventilado y el colapsado, lo cual sugiere que predomina un mecanismo diferente de daño en cada pulmón.

En el pulmón ventilado observamos un aumento en los niveles de MCP-1. Otros autores han demostrado la importancia de MCP-1 en el daño pulmonar causado por hiperoxia y por ventilación mecánica los cuales forman parte fundamental de los mecanismos de daño en el pulmón ventilado (129,514).

D'angio y cols. demuestran en conejos expuestos a una FiO₂ de 0,95 durante 64 horas con una posterior recuperación de 72 horas con FiO₂ 0,21 que existe una expresión significativamente mayor de mRNA de MCP-1 que en los animales control, y que además se acompaña de un aumento en la celularidad y daño histológico pulmonar (514). Mientras que D'angelo y cols. en un modelo *exvivo* en ratas con diferentes modos de ventilación mecánica demuestran que volúmenes corrientes elevados y el uso de PEEP cero se acompaña de daño pulmonar (aumento de células inflamatorias, inestabilidad alveolar con atelectasia por déficit de surfactante y de un aumento en la permeabilidad epitelial y endotelial con el consecuente edema pulmonar) todo ello asociado a un aumento en la síntesis de diversas citoquinas proinflamatorias, incluida macrophage inflammatory protein (MIP-2) que pertenece exactamente a la misma familia de citoquinas que MCP-1 (129).

Paralelamente desde el punto de vista clínico Goodman y cols. demuestran, en un estudio prospectivo de más de 80 pacientes con SDRA a los que se le realizó LBA los días 3, 7, 14 y 21 días después del inicio del cuadro, que existe un aumento significativo en las concentraciones de múltiples citoquinas sin importar la duración del cuadro incluida MCP-1 cuyos niveles se correlacionan directamente con el grado de daño pulmonar en los días 7,14 y 21 (182). Mientras que Lin y cols. también en un estudio prospectivo compara LBA de pacientes con edema pulmonar por dos etiologías: cardiogénico o SDRA y observan un perfil de expresión inflamatorio significativo en el grupo de pacientes con SDRA a diferencia del edema cardiogénico, encontrando entre

las citoquinas elevadas MCP-1 existiendo además una correlación positiva entre sus niveles y la gravedad del daño pulmonar (227).

La lidocaína en nuestro modelo previene este aumento en los niveles de MCP-1 lo que puede significar un menor reclutamiento de monocitos con menor producción de TNF- α . Los mecanismos por los cuales el AL puede ejercer este efecto fueron expuestos en los dos apartados anteriores.

Por otro lado, en el caso del pulmón colapsado el papel protector del daño pulmonar de la lidocaína parece actuar por un mecanismo diferente al del pulmón ventilado durante la VUP. Aunque también se observa una importante reducción en la expresión de mRNA de TNF- α esta no es consecuencia de la disminución en la quimiotaxis y/o activación de macrófagos por MCP-1 ya que los niveles son similares a los controles. Sin embargo, en el pulmón colapsado en el grupo de lidocaína, se observa una disminución en la expresión de NF- $\kappa\beta$, proteína reguladora de la transcripción genética de diversas citoquinas.

El TNF- α es un conocido activador de NF- $\kappa\beta$ (515) aunque este no parece ser el mecanismo regulador en nuestro modelo experimental ya que en el pulmón ventilado también se encuentra elevada la expresión de TNF- α pero no la de NF- $\kappa\beta$, así que probablemente el daño de IR que ocurre en el pulmón colapsado con la consecuente formación de especies reactivas de oxígeno (516) sea el causante de la elevación en la transcripción de NF- $\kappa\beta$.

Renard y cols. demostraron previamente en un modelo en cultivos celulares con un ambiente oxidativo en el que la inhibición de enzimas antioxidantes se acompañan de una sobrestimulación en la síntesis de NF- $\kappa\beta$ mientras que lo opuesto ocurre al estimular estas enzimas, todo esto acompañado del aumento de la síntesis de citoquinas proinflamatorias en el primer caso y de su inhibición en el segundo (517). La presencia

de especies reactivas de oxígeno y/o productos de la peroxidación lipídica causan una rápida fosforilación y degradación de I κ B que activa la transcripción de NF- κ B, lo cual a su vez produce un aumento en la expresión de citoquinas proinflamatorias (518,519).

También hemos encontrado niveles elevados de IL-1b en el pulmón colapsado que puede ser secundario al aumento de la expresión del NF- κ B o al daño isquémico en sí mismo (520) y que secundariamente se produzca un aumento la expresión de NF- κ B. Ya que al igual que ocurre con el TNF- α , se regulan mutuamente. Es decir, tanto la IL-1b activa la expresión de NF- κ B como NF- κ B activa la expresión de IL-1b. Tal y como lo demostraron Brigelius y cols. en cultivos de células endoteliales normales y modificadas genéticamente para sobreexpresar la enzima protectora de la oxidación “glutación peroxidasa”. Mientras en células endoteliales normales al exponerse a un ambiente oxidativo se sobrestimula la síntesis de IL-1b que luego induce la activación de NF- κ B, en las células que expresan niveles más elevados de glutación peroxidasa se inhibe la activación de NF- κ B por una disminución en la expresión de IL-1b (521). Independientemente del primero en expresarse y actuar, bien sea IL-1b o NF- κ B, este parece ser el mecanismo implicado en el daño por IR en el pulmón colapsado en nuestro modelo en el cual la lidocaína muestra un papel protector frente la elevación de ambos mediadores de la inflamación.

Previamente hemos mencionado los mecanismos por los cuales la lidocaína puede modular la vía de señalización de NF- κ B en los trabajos realizados por Lahat y cols. En el caso de la IL-1b Lahav y cols. en cultivo de células intestinales estimuladas para producir citoquinas proinflamatorias observaron que la lidocaína disminuye la síntesis y secreción de IL-1b aunque el mecanismo de acción no queda aclarado (387). Lan y cols. en células endoteliales estimuladas observan que la lidocaína atenúa la expresión de IL-1b y otras citoquinas y moléculas de adhesión, siendo explicado al

menos en parte, por una menor concentración citoplasmática de calcio y por la disminución de la actividad de la protein quinasa C como segundo mensajero (522). En nuestro modelo no hemos estudiado el mecanismo por el cual la lidocaína ejerce su papel modulador en la síntesis de estos mediadores, sin embargo existe un claro papel en la respuesta inflamatoria.

5.4 APOPTOSIS

En nuestro modelo experimental hemos observado, a las 24h de la cirugía, un aumento de los marcadores de apoptosis en las muestras tomadas tanto del pulmón ventilado como del pulmón colapsado. Lo cual concuerda con lo observado en múltiples estudios animales y clínicos de daño pulmonar (304–306). Vernooy y cols. en ratones a las que se administró lipopolisacárido intra-traqueal observa un aumento en la apoptosis de los neumocitos, previa a la infiltración por neutrófilos y que es independiente de TNF- α (306). Kitamura y cols. también estudia un modelo de daño pulmonar por instilación de lipopolisacárido en el que demuestra un aumento de la apoptosis dependiente del sistema Fas/FasL (305), lo cual apoya estos resultados. Desde el punto de vista clínico en un estudio prospectivo de pacientes con insuficiencia respiratoria ingresados en cuidados intensivos, Albertine y cols. analizan los LBA y observan un aumento en la apoptosis de las células alveolares en los pacientes con SDRA a diferencia de aquellos con edema pulmonar cardiogénico (304). También Oka y cols. en pacientes programados para cirugía electiva observan un aumento en la apoptosis de sus células inmunológicas como consecuencia del estrés quirúrgico (523) al igual de lo que describen Delogu y cols. en el estudio del suero de pacientes sometidos a cirugía programada con ventilación mecánica (524).

Los mecanismos implicados en el aumento de la apoptosis secundaria a los estímulos que causan daño pulmonar son complejos y están bajo la influencia de múltiples vías de señalización entre las que se encuentran: 1) Los neutrófilos, que juegan un papel clave como principal célula inmunológica de la respuesta inflamatoria (525), son capaces de aumentar la apoptosis celular al liberar sustancias tóxicas contra patógenos como proteasas o radicales de oxígeno que rompen las interacciones de células vecinas o de estas con la matriz extracelular y de esta forma estimular la apoptosis (526), 2) El aumento de TNF- α también está implicado en múltiples modelos *in vivo e in vitro* como inductor de apoptosis (397,527,528), aunque estudios en animales modificados genéticamente para no producir TNF- α o el uso de anti TNF- α en los que se mantiene cierto nivel de apoptosis sugieren que el TNF- α no es esencial para promover este mecanismo en células epiteliales pulmonares (529), 3) El sistema Fas/FasL también ha demostrado ser otra de las vías de activación de la apoptosis de células alveolares en algunos modelos animales de daño pulmonar (305), todo lo que reafirma que se trata de un proceso regulado por varias vías que actúan en mayor o menor medida dependiendo del modelo de daño que se estudie.

La lidocaína en nuestro modelo experimental mantiene los niveles de los marcadores de apoptosis similares a los encontrados en el grupo SHAM. En el pulmón ventilado ejerce un papel antiapoptótico al modificar la expresión de las proteínas reguladoras de la familia Bcl-2 disminuyendo las proteínas BAD y BAX que promueven la apoptosis y aumentando los niveles de la proteína antiapoptótica Bcl-2, observando finalmente niveles más bajos de caspasa 9 y 3, lo cual demuestra una menor actividad apoptótica, bien como consecuencia de la disminución de los niveles de TNF- α por los mecanismos explicados en los apartados previos o bien secundario a otros mecanismos no estudiados.

En el pulmón colapsado la lidocaína también disminuye las concentraciones de caspasa 9 y 3 probablemente porque inhibe el aumento de las proteínas proapoptóticas BAD y BAX aunque a diferencia del pulmón ventilado no aumenta Bcl-2, pudiendo ser un efecto mediado por $\text{TNF-}\alpha$, o como han demostrado otros autores, por un efecto regulador de $\text{NF-}\kappa\text{B}$ o IL-1b sobre la apoptosis. Abbate y cols. en un estudio experimental de infarto miocárdico en ratones utilizando un inhibidor selectivo de IL-1, observa una clara disminución de la apoptosis postisquemia de los cardiomiocitos (530). Mientras que Sorolla y cols. observan un efecto similar con bloqueantes de $\text{NF-}\kappa\text{B}$ en cultivos de células endometriales (531). Siendo la lidocaína capaz de regular la actividad de ambos mediadores como previamente hemos descrito. Por lo cual el papel antiapoptótico de la lidocaína en nuestro modelo de cirugía de resección pulmonar puede ocurrir por la regulación de más de una vía de estímulo.

Al estudiar específicamente el papel que puede tener la lidocaína sobre la apoptosis Lei y cols. en un modelo animal de isquemia cerebral con oclusión temporal de 90 min. de la arteria cerebral media, han demostrado que una perfusión IV de lidocaína disminuye el tamaño del infarto cerebral al disminuir la apoptosis en el área de penumbra por mecanismos no del todo aclarados (411). En un modelo de isquemia miocárdica con oclusión durante 30 min. de una arteria coronaria Kaczmarek y cols. encontraron un efecto similar, la lidocaína disminuyó el tamaño del infarto y la apoptosis del tejido muscular cuando se administraba antes de la oclusión o de la perfusión (412). Aunque los mecanismos intracelulares de acción no están definidos, pensamos que estos pueden ser justificados a través de varios mecanismos: 1) la concentración intracelular de calcio juega un papel clave en la regulación de múltiples procesos celulares incluida la apoptosis, un incremento en la concentración citoplasmática de calcio ocurre en etapas tempranas y avanzadas de la apoptosis este

aumento ocurre tanto por una liberación del retículo endoplásmico como por un aumento en la capacitancia de los canales de la membrana celular (532), la lidocaína y otros AL inhiben de forma dosis dependiente los canales de calcio en diferentes tipos celulares (533,534). 2) Otro mecanismo a tener en consideración es que la isquemia celular va acompañada de un aumento en las concentraciones citoplasmáticas de sodio (535) por lo que el bloqueo de estos canales de Na por la lidocaína pueden acompañarse de una reducción o un retraso en su acumulación pudiendo bien ahorrar ATP por una menor necesidad del uso de la bomba Na^+/K^+ o bien disminuir la activación del co-transporte Na^+/Ca^+ y con ello las concentraciones intracelulares de Calcio. 3) Por otra parte, la lidocaína posee una actividad antioxidante y de disminución de radicales libres (536) que pueden actuar protegiendo a las estructuras celulares de este tipo de daño. Estos mecanismos de acción sobre la célula junto con la modificación de las vías de señalización y de citoquinas reguladoras de la apoptosis pueden justificar el papel antiapoptótico observado en nuestro modelo. Sin embargo, en contraposición a nuestros hallazgos diferentes estudios en cultivos de células neuronales, renales, linfocíticas y condrocíticas (402,405,537) observan que el uso de lidocaína produce aumento dosis dependiente en la apoptosis celular, dichos autores a diferencia de lo utilizado en nuestro modelos observan este efecto a concentraciones mucho mayores del AL sobre cultivos celulares. Aunque no hemos realizado la medición de las concentraciones plasmáticas de AL en nuestro modelo podemos, por analogía con muchos otros modelos, suponer que las mismas serán inferiores a 5 ug/ml en todo caso tenderán a estar en ese orden, mientras que las concentraciones utilizadas en los estudios donde se describe un papel proapoptótico de los AL son concentraciones al menos cien veces superior, lo cual puede justificar los diferentes resultados. Otra posible justificación es

que en sus modelos experimentales no hubo las fases de isquemia reperfusión ni de inflamación que observamos en nuestro modelo.

5.5 METABOLISMO DEL ÓXIDO NÍTRICO

En nuestro modelo, en el grupo control hemos encontrado niveles bajos de NO tanto en LBA como en sangre que puede corresponder a una mayor formación de especies reactivas, que contribuyan en la patogénesis del daño pulmonar. En este sentido, diversos autores demuestran que la utilización del NO en la formación de especies reactivas de nitrógeno por parte de células inmunológicas, endoteliales y epiteliales pulmonares en respuesta a los estímulos inflamatorios, tienen un papel clave en el daño pulmonar (83,333).

Al analizar la expresión enzimática de las sintetasas en el tejido pulmonar hemos observado que en el pulmón ventilado no existen diferencias significativas en la expresión de iNOS entre el grupo control y lidocaína. Lo cual concuerda con lo reportado por Takenaka y cols. y Choi y cols. en modelos de daño pulmonar inducido por la ventilación mecánica, ninguno de los dos equipos encuentran ninguna modificación en los niveles de iNOS que acompañen al daño pulmonar, a pesar de que ambos estudios utilizan un protocolo de ventilación diferente (538,539). Aunque en el daño que ocurre en el pulmón ventilado también intervienen otros mecanismos además de la ventilación mecánica, en nuestro modelo estos no incrementan los niveles de expresión de la iNOS. Tampoco hemos encontrado diferencias en los niveles de eNOS entre los grupos control y lidocaína aunque existe una tendencia a su reducción en el grupo control.

Al observar lo que ocurre en pulmón colapsado cuyo mecanismo fundamental de daño probablemente sea el causado por la IR, y no se deba a las fuerzas físicas causadas por la ventilación mecánica, existe una mayor formación de iNOS lo cual es de esperar que ocurra en un ambiente oxidativo. Como hemos descrito anteriormente el metabolismo del NO juega un papel clave en varios modelos de daño pulmonar pero es fundamental en el causado por isquemia reperusión (337,540). Yeh y cols. en un modelo animal con clampaje de la arteria pulmonar por 60 minutos seguidos de una reperusión de 120 minutos, observaron mayor grado de daño pulmonar que se acompañó de una mayor expresión de mRNA de iNOS mientras que al utilizar un inhibidor específico de la iNOS el grado de daño pulmonar se vio significativamente reducido (541). Al estudiar otros modelos de daño pulmonar también se confirma la sobreexpresión de iNOS que acompaña a la respuesta inflamatoria. En este sentido Lee y cols. utilizando un modelo de daño pulmonar por endotoxina obtienen unos resultados similares con elevación de la expresión de iNOS y menor daño pulmonar al administrar inhibidores de la iNOS (542). También existe en la literatura algunos otros ejemplos de estos resultados (331,543,544). Desde el punto de vista clínico Sittipunt y cols. analizaron muestras de LBA realizados a pacientes intubados con alto riesgo de SDRA y de pacientes con diagnóstico de SDRA en los días 1, 3, 7, 14 y 21 desde el inicio del cuadro y encontraron una expresión elevada de iNOS antes y después del diagnóstico, además de una acumulación de especies reactivas derivadas de NO lo cual reafirma la importancia de esta vía en los mecanismos de daño pulmonar (330). La sobreexpresión de iNOS que encontramos en estos cuadros puede ser desencadenada por un aumento en los niveles de citoquinas proinflamatorias como IL-1b y TNF- α (545,546).

En el análisis de los efectos de tiene la administración de lidocaína sobre la expresión de las NO sintetasas observamos que aunque algunos autores han descrito un

efecto inhibitor del AL en la formación de iNOS (416,417) en cultivos celulares de macrófagos estimulados con lipopolisacárido. En nuestro modelo experimental la lidocaína no modifica los niveles de iNOS, esta diferencia con nuestros hallazgos podría explicarse gracias a la presencia de un gran estímulo para la formación de iNOS en relación con las dosis de lidocaína empleadas en nuestro modelo en comparación con lo utilizado por los primeros autores o también debido al diferente mecanismo inductor de iNOS que en nuestro caso es multifactorial pero con un componente importante de IR mientras que en los primeros se trata de daño inducido por lipopolisacárido.

Hemos observado en nuestro modelo que la lidocaína, también en el pulmón colapsado, aumenta la expresión de eNOS. Hasta nuestro conocimiento somos los primeros autores en describir este fenómeno que puede tener implicación fundamental dado el papel protector que ocupa esta enzima en multitud de procesos biológicos. El hecho que la lidocaína estimule a la formación de eNOS (enzima calcio dependiente) y no afecte la de iNOS (no dependiente del calcio) podría deberse al efecto de los anestésicos locales sobre la concentración de calcio intracelular. Toba y cols. en un modelo animal para el estudio de la hipertensión observaron que los bloqueantes de calcio dihidropiridínicos aumentan la expresión y la actividad de eNOS lo cual puede justificar en parte su papel como vasodilatador arterial (547). Igualmente Ding y cols. observan en cultivo de células endoteliales que el felodipino (antagonista del calcio) estimula de forma dosis dependiente la expresión de eNOS y mejora su actividad (548). Mientras que, como ya hemos mencionado, la lidocaína y otros AL disminuyen la concentración intracelular de Ca al inhibir canales voltaje dependientes de la membrana celular y/o de la disminución de liberación del retículo sarcoplásmico (533,534,549).

El aumento en la expresión de eNOS juega un papel protector frente al daño pulmonar por múltiples mecanismos. Kaminski y cols. en un modelo de daño pulmonar

por isquemia reperusión con clampaje de un hilio pulmonar durante 1 hora utilizaron ratas genéticamente normales y ratas con bloqueo genético para sintetizar eNOS y observaron que en estas últimas se observaba un mayor daño pulmonar con mayor edema e infiltración de PMN que se acompañó de una mayor concentración de moléculas de adhesión, por lo que concluyen que la expresión de eNOS representa un papel protector frente a este daño (550). Takenaka y cols. observan en ratones modificados genéticamente para sobreexpresar eNOS que se encuentran protegidos frente al daño pulmonar inducido por la ventilación mecánica (538). A su vez, De Caterina y cols. observaron en cultivos celulares de células endoteliales humanas que el NO inhibe de forma dosis dependiente la expresión no solo de moléculas de adhesión sino también de diversas citoquinas proinflamatorias, lo cual se acompaña como es de esperar de una menor quimiotaxis de células inflamatorias, este grupo además observó que esta inhibición de la transcripción celular se ejerce al menos en parte a través de la inhibición de NF- κ B y no contribuyen segundos mensajeros como cGMP (551).

Okayasu y cols. refuerzan la mediación de NF- κ B como mediador del proceso de inhibición de síntesis de moléculas de adhesión y citoquinas por parte de la eNOS. Ellos demuestran en cultivos de células endoteliales que estimulando la producción de eNOS logran la inhibición de la actividad de IKK que disminuye la fosforilación de I κ B y de esta manera la liberación y posterior traslocación al núcleo de NF- κ B que se acompaña de la disminución de la transcripción genética de los diferentes mediadores (552). Finalmente Raveendran y cols. en células endoteliales tratadas con estimuladores de la apoptosis, observaron que la activación de la eNOS disminuye significativamente la apoptosis mientras que por el contrario la inhibición de la eNOS acentúa la apoptosis causada por los estimuladores (553). Lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Shen y cols. que en cultivos celulares lograron la inhibición farmacológica de la

apoptosis a través de un aumento en los niveles de eNOS (554). De todo lo cual se deduce que las estrategias terapéuticas que aumenten la expresión de eNOS pueden ayudar a prevenir o mejorar las diferentes formas de daño pulmonar. Siendo la administración de lidocaína una nueva herramienta terapéutica para conseguir este objetivo.

5.6 EDEMA PULMONAR

En nuestro modelo experimental hemos observado cierto grado de daño pulmonar expresado en forma de edema, que ocurre predominantemente en el pulmón sometido a VUP durante el procedimiento, lo cual resalta la importancia del daño por ventilación mecánica durante la cirugía de tórax a pesar de realizarse una ventilación de protección pulmonar. La lidocaína en nuestro modelo es capaz de atenuar el daño pulmonar en forma de edema en el pulmón ventilado, lo cual demuestra por primera vez el papel de la lidocaína en la prevención del daño asociado a ventilación mecánica. Múltiples modelos de daño pulmonar en animales han demostrado el efecto protector de la lidocaína (451–462), pero no existe en la literatura ninguno que evalúe su papel frente al daño inducido por la ventilación mecánica.

En el pulmón colapsado cuyo mecanismo de daño fundamental es la IR también se observa una tendencia al aumento del edema pulmonar a las 24 horas y que es menor en el grupo de lidocaína pero que no es estadísticamente significativo. Sin embargo el papel protector de la lidocaína frente este tipo de daño pulmonar ha sido demostrado por varios autores (460–462), lo cual ha sido explicado por una reducción en la respuesta inflamatoria secundaria a este daño. A diferencia de estos estudios en nuestro modelo existe cierto daño IR por la VPH que ocurre en el pulmón colapsado y que contribuye a

la formación de daño pulmonar pero no existe una ausencia completa del flujo sanguíneo como se describe en los estudios para evaluar el daño por IR.

Finalmente, parece fácil pensar que las medidas para mitigar la reacción inflamatoria pulmonar durante la cirugía de resección pulmonar pueden mejorar el pronóstico postoperatorio. Sin embargo, no se sabe si estos resultados son reproducibles en los pacientes con pulmones dañados por fumar o cuando la respuesta inmune se altera por la presencia de enfermedades neoplásicas, situaciones habituales en la práctica clínica; por ello consideramos que es necesaria una mayor investigación sobre el manejo perioperatorio con lidocaína en pacientes sometidos a cirugía de resección pulmonar.

6 CONCLUSIONES

1) Durante cirugía de resección pulmonar no ocurren alteraciones hemodinámicas significativas mientras que durante la ventilación unipulmonar ocurre una disminución de la presión arterial de oxígeno.

2) La administración intravenosa de lidocaína no altera la oxigenación arterial durante el intraoperatorio, ni a las 24 horas después de la cirugía de resección pulmonar al compararlo con el grupo control.

3) La administración intravenosa de lidocaína no produce efectos hemodinámicos durante el intraoperatorio, ni a las 24 horas después de la cirugía de resección pulmonar al compararlo con el grupo control.

4) La cirugía de resección pulmonar aumenta la producción y liberación de mediadores de la inflamación durante el período intraoperatorio y a las 24 horas siguientes, siendo además capaz de causar cierto grado de daño en forma de edema pulmonar.

5) La administración intravenosa de lidocaína durante la cirugía de resección pulmonar es capaz de atenuar la formación y liberación de mediadores inflamatorios y el daño en forma de edema pulmonar a las 24 horas al compararlo con el grupo control.

6) La cirugía de resección pulmonar aumenta los marcadores de apoptosis de las células pulmonares a las 24 horas de la cirugía.

7) La administración intravenosa de lidocaína durante la cirugía de resección pulmonar es capaz de atenuar la apoptosis de las células pulmonares a las 24 horas de la cirugía al compararla con el grupo control.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Vlahakis NE, Hubmayr RD. Response of alveolar cells to mechanical stress. *Curr Opin Crit Care*. 2003 Feb;9(1):2–8.
2. Fisher JL, Levitan I, Margulies SS. Plasma membrane surface increases with tonic stretch of alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004 Aug;31(2):200–8.
3. Tschumperlin DJ, Oswari J, Margulies AS. Deformation-induced injury of alveolar epithelial cells. Effect of frequency, duration, and amplitude. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Aug;162(2 Pt 1):357–62.
4. Pugin J. Molecular mechanisms of lung cell activation induced by cyclic stretch. *Critical Care Medicine*. 2003 Apr;31(Supplement):S200–6.
5. Banes AJ, Tsuzaki M, Yamamoto J, Fischer T, Brigman B, Brown T, et al. Mechanoreception at the cellular level: the detection, interpretation, and diversity of responses to mechanical signals. *Biochem Cell Biol*. 1995 Aug;73(7-8):349–65.
6. Aikawa R, Komuro I, Yamazaki T, Zou Y, Kudoh S, Zhu W, et al. Rho family small G proteins play critical roles in mechanical stress-induced hypertrophic responses in cardiac myocytes. *Circ Res*. 1999 Mar 5;84(4):458–66.
7. Geiger B, Bershadsky A. Exploring the Neighborhood. *Cell*. 2002 Jul 26;110(2):139–42.
8. Pugin J, Dunn I, Jolliet P, Tassaux D, Magnenat JL, Nicod LP, et al. Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6 Pt 1):L1040–50.
9. Oudin S, Pugin J. Role of MAP kinase activation in interleukin-8 production by human BEAS-2B bronchial epithelial cells submitted to cyclic stretch. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002 Jul;27(1):107–14.
10. Vlahakis NE, Schroeder MA, Limper AH, Hubmayr RD. Stretch induces cytokine release by alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol*. 1999 Jul;277(1 Pt 1):L167–73.
11. Uhlig U. Phosphoinositide 3-OH Kinase Inhibition Prevents Ventilation-induced Lung Cell Activation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003 Nov;169(2):201–8.
12. BENDIXEN HH, HEDLEY-WHYTE J, LAVER MB. IMPAIRED OXYGENATION IN SURGICAL PATIENTS DURING GENERAL ANESTHESIA WITH CONTROLLED VENTILATION. A CONCEPT OF ATELECTASIS. *N Engl J Med*. 1963 Nov 7;269:991–6.
13. Biehl M, Kashiouris MG, Gajic O. Ventilator-induced lung injury: minimizing its impact in patients with or at risk for ARDS. *Respir Care*. 2013 Jun;58(6):927–37.
14. Wolthuis EK, Choi G, Dessing MC, Bresser P, Lutter R, Dzoljic M, et al. Mechanical ventilation with lower tidal volumes and positive end-expiratory pressure prevents pulmonary inflammation in patients without preexisting lung injury. *Anesthesiology*. 2008 Jan;108(1):46–54.
15. Futier E, Constantin JM, Jaber S. Protective lung ventilation in operating room: a systematic review. *Minerva Anesthesiol*. 2014 Jun;80(6):726–35.
16. Petrucci N, Iacovelli W. Ventilation with smaller tidal volumes: a quantitative systematic review of randomized controlled trials. *Anesth Analg*. 2004 Jul;99(1):193–200.
17. Petrucci N, Iacovelli W. Lung protective ventilation strategy for the acute respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(3):CD003844.
18. Dreyfuss D, Basset G, Soler P, Saumon G. Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular

injury in rats. *Am Rev Respir Dis*. 1985 Oct;132(4):880–4.

19. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest*. 1997 Mar 1;99(5):944–52.
20. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*. 1988 May;137(5):1159–64.
21. Wilson MR, Choudhury S, Takata M. Pulmonary inflammation induced by high-stretch ventilation is mediated by tumor necrosis factor signaling in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 Apr;288(4):L599–607.
22. Hillman NH, Moss TJM, Kallapur SG, Bachurski C, Pillow JJ, Polglase GR, et al. Brief, Large Tidal Volume Ventilation Initiates Lung Injury and a Systemic Response in Fetal Sheep. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Sep 15;176(6):575–81.
23. Hauber HP, Karp D, Goldmann T, Vollmer E, Zabel P. Effect of low tidal volume ventilation on lung function and inflammation in mice. *BMC Pulm Med*. 2010 Apr 21;10:21.
24. Needham DM, Colantuoni E, Mendez-Tellez PA, Dinglas VD, Sevransky JE, Dennison Himmelfarb CR, et al. Lung protective mechanical ventilation and two year survival in patients with acute lung injury: prospective cohort study. *BMJ*. 2012;344:e2124.
25. Gajic O, Dara SI, Mendez JL, Adesanya AO, Festic E, Caples SM, et al. Ventilator-associated lung injury in patients without acute lung injury at the onset of mechanical ventilation. *Crit Care Med*. 2004 Sep;32(9):1817–24.
26. Gajic O, Frutos-Vivar F, Esteban A, Hubmayr RD, Anzueto A. Ventilator settings as a risk factor for acute respiratory distress syndrome in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med*. 2005 Jul;31(7):922–6.
27. Determann RM, Royakkers A, Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, Paulus F, et al. Ventilation with lower tidal volumes as compared with conventional tidal volumes for patients without acute lung injury: a preventive randomized controlled trial. *Crit Care*. 2010;14(1):R1.
28. Lee PC, Helmsmoortel CM, Cohn SM, Fink MP. Are low tidal volumes safe? *CHEST*. 1990 Feb 1;97(2):430–4.
29. Pinheiro de Oliveira R, Hetzel MP, dos Anjos Silva M, Dallegrave D, Friedman G. Mechanical ventilation with high tidal volume induces inflammation in patients without lung disease. *Crit Care*. 2010;14(2):R39.
30. Zupancich E, Paparella D, Turani F, Munch C, Rossi A, Massaccesi S, et al. Mechanical ventilation affects inflammatory mediators in patients undergoing cardiopulmonary bypass for cardiac surgery: a randomized clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005 Aug;130(2):378–83.
31. Reis Miranda D, Gommers D, Struijs A, Dekker R, Mekel J, Feelders R, et al. Ventilation according to the open lung concept attenuates pulmonary inflammatory response in cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2005 Dec;28(6):889–95.
32. Wrigge H, Uhlig U, Baumgarten G, Menzenbach J, Zinserling J, Ernst M, et al. Mechanical ventilation strategies and inflammatory responses to cardiac surgery: a prospective randomized clinical trial. *Intensive Care Med*. 2005 Oct;31(10):1379–87.
33. Sundar S, Novack V, Jervis K, Bender SP, Lerner A, Panzica P, et al. Influence of low tidal volume ventilation on time to extubation in cardiac surgical patients.

Anesthesiology. 2011 May;114(5):1102-10.

34. Reis Miranda D, Struijs A, Koetsier P, van Thiel R, Schepp R, Hop W, et al. Open lung ventilation improves functional residual capacity after extubation in cardiac surgery. *Crit Care Med*. 2005 Oct;33(10):2253-8.

35. Lellouche F, Dionne S, Simard S, Bussi res J, Dagenais F. High tidal volumes in mechanically ventilated patients increase organ dysfunction after cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2012 May;116(5):1072-82.

36. Mascia L PD. Effect of a lung protective strategy for organ donors on eligibility and availability of lungs for transplantation: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2010 Dec 15;304(23):2620-7.

37. Weingarten TN, Whalen FX, Warner DO, Gajic O, Schears GJ, Snyder MR, et al. Comparison of two ventilatory strategies in elderly patients undergoing major abdominal surgery. *Br J Anaesth*. 2010 Jan 1;104(1):16-22.

38. Wrigge H, Zinserling J, St ber F, von Spiegel T, Hering R, Wetegrove S, et al. Effects of mechanical ventilation on release of cytokines into systemic circulation in patients with normal pulmonary function. *Anesthesiology*. 2000 Dec;93(6):1413-7.

39. Choi G, Wolthuis EK, Bresser P, Levi M, van der Poll T, Dzoljic M, et al. Mechanical ventilation with lower tidal volumes and positive end-expiratory pressure prevents alveolar coagulation in patients without lung injury. *Anesthesiology*. 2006 Oct;105(4):689-95.

40. Futier E, Constantin J-M, Paugam-Burtz C, Pascal J, Eurin M, Neuschwander A, et al. A trial of intraoperative low-tidal-volume ventilation in abdominal surgery. *N Engl J Med*. 2013 Aug 1;369(5):428-37.

41. Tremper KK, Konchigeri HN, Cullen BF, Kapur PA, Thangathurai D, Percival C. Transcutaneous monitoring of oxygen tension during one-lung anesthesia. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1984 Jul;88(1):22-5.

42. Hurford WE, Kolker AC, Strauss HW. The use of ventilation/perfusion lung scans to predict oxygenation during one-lung anesthesia. *Anesthesiology*. 1987 Nov;67(5):841-4.

43. Euler US v., Liljestrand G. Observations on the Pulmonary Arterial Blood Pressure in the Cat. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1946;12(4):301-20.

44. Post JM, Gelband CH, Hume JR. [Ca²⁺]_i Inhibition of K⁺ Channels in Canine Pulmonary Artery Novel Mechanism for Hypoxia-Induced Membrane Depolarization. *Circulation Research*. 1995 Jul 1;77(1):131-9.

45. Kerbault F, Bellezza M, Guidon C, Roussel L, Imbert M, Carpentier JP, et al. Effects of sevoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in anaesthetized piglets. *Br J Anaesth*. 2000 Sep;85(3):440-5.

46. Kerbault F, Guidon C, Stephanazzi J, Bellezza M, Le Dantec P, Longeon T, et al. Sub-MAC concentrations of desflurane do not inhibit hypoxic pulmonary vasoconstriction in anesthetized piglets. *Can J Anaesth*. 2001 Sep;48(8):760-7.

47. Pruszkowski O, Dalibon N, Moutafis M, Jugan E, Law-Koune JD, Lalo  PA, et al. Effects of propofol vs sevoflurane on arterial oxygenation during one-lung ventilation. *Br J Anaesth*. 2007 Apr;98(4):539-44.

48. Brodsky JB, Lemmens HJM. Left double-lumen tubes: clinical experience with 1,170 patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2003 Jun;17(3):289-98.

49. Inomata S, Nishikawa T, Saito S, Kihara S. "Best" PEEP during one-lung ventilation. *Br J Anaesth*. 1997 Jun;78(6):754-6.

50. Brodsky JB, Fitzmaurice B. Modern anesthetic techniques for thoracic

operations. *World J Surg.* 2001 Feb;25(2):162–6.

51. Gama de Abreu M, Heintz M, Heller A, Széchényi R, Albrecht DM, Koch T. One-lung ventilation with high tidal volumes and zero positive end-expiratory pressure is injurious in the isolated rabbit lung model. *Anesth Analg.* 2003 Jan;96(1):220–8, table of contents.

52. Kuzkov VV, Suborov EV, Kirov MY, Kuklin VN, Sobhkhez M, Johnsen S, et al. Extravascular lung water after pneumonectomy and one-lung ventilation in sheep. *Crit Care Med.* 2007 Jun;35(6):1550–9.

53. Schilling T, Kozian A, Huth C, Bühling F, Kretzschmar M, Welte T, et al. The pulmonary immune effects of mechanical ventilation in patients undergoing thoracic surgery. *Anesth Analg.* 2005 Oct;101(4):957–65, table of contents.

54. Licker M, de Perrot M, Spiliopoulos A, Robert J, Diaper J, Chevalley C, et al. Risk factors for acute lung injury after thoracic surgery for lung cancer. *Anesth Analg.* 2003 Dec;97(6):1558–65.

55. Van der Werff YD, van der Houwen HK, Heijmans PJ, Duurkens VA, Leusink HA, van Heesewijk HP, et al. Postpneumonectomy pulmonary edema. A retrospective analysis of incidence and possible risk factors. *Chest.* 1997 May;111(5):1278–84.

56. Tuğrul M, Camci E, Karadeniz H, Sentürk M, Pembeci K, Akpir K. Comparison of volume controlled with pressure controlled ventilation during one-lung anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1997 Sep;79(3):306–10.

57. Lang CJ, Barnett EK, Doyle IR. Stretch and CO₂ modulate the inflammatory response of alveolar macrophages through independent changes in metabolic activity. *Cytokine.* 2006 Mar 21;33(6):346–51.

58. Kregenow DA, Rubenfeld GD, Hudson LD, Swenson ER. Hypercapnic acidosis and mortality in acute lung injury. *Crit Care Med.* 2006 Jan;34(1):1–7.

59. Duggan M, Kavanagh BP. Atelectasis in the perioperative patient. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2007 Feb;20(1):37–42.

60. Rothen HU, Sporre B, Engberg G, Wegenius G, Reber A, Hedenstierna G. Prevention of atelectasis during general anaesthesia. *Lancet.* 1995 Jun 3;345(8962):1387–91.

61. Rothen HU, Sporre B, Engberg G, Wegenius G, Reber A, Hedenstierna G. Atelectasis and pulmonary shunting during induction of general anaesthesia--can they be avoided? *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996 May;40(5):524–9.

62. Duggan M, McCaul CL, McNamara PJ, Engelberts D, Ackerley C, Kavanagh BP. Atelectasis causes vascular leak and lethal right ventricular failure in uninjured rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Jun 15;167(12):1633–40.

63. Suh GY, Koh Y, Chung MP, An CH, Kim H, Jang WY, et al. Repeated derecruitments accentuate lung injury during mechanical ventilation. *Crit Care Med.* 2002 Aug;30(8):1848–53.

64. Licker M, Diaper J, Villiger Y, Spiliopoulos A, Licker V, Robert J, et al. Impact of intraoperative lung-protective interventions in patients undergoing lung cancer surgery. *Crit Care.* 2009;13(2):R41.

65. Fernández-Pérez ER, Keegan MT, Brown DR, Hubmayr RD, Gajic O. Intraoperative tidal volume as a risk factor for respiratory failure after pneumonectomy. *Anesthesiology.* 2006 Jul;105(1):14–8.

66. Michelet P, D'Journo X-B, Roch A, Doddoli C, Marin V, Papazian L, et al. Protective ventilation influences systemic inflammation after esophagectomy: a randomized controlled study. *Anesthesiology.* 2006 Nov;105(5):911–9.

67. Schilling T, Kozian A, Huth C, Bühling F, Kretzschmar M, Welte T, et al. The pulmonary immune effects of mechanical ventilation in patients undergoing thoracic surgery. *Anesth Analg*. 2005 Oct;101(4):957–65, table of contents.
68. Schilling T, Kozian A, Kretzschmar M, Huth C, Welte T, Bühling F, et al. Effects of propofol and desflurane anaesthesia on the alveolar inflammatory response to one-lung ventilation. *Br J Anaesth*. 2007 Sep;99(3):368–75.
69. De Conno E, Steurer MP, Wittlinger M, Zalunardo MP, Weder W, Schneider D, et al. Anesthetic-induced improvement of the inflammatory response to one-lung ventilation. *Anesthesiology*. 2009 Jun;110(6):1316–26.
70. Schilling T, Kozian A, Senturk M, Huth C, Reinhold A, Hedenstierna G, et al. Effects of volatile and intravenous anesthesia on the alveolar and systemic inflammatory response in thoracic surgical patients. *Anesthesiology*. 2011 Jul;115(1):65–74.
71. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 1994 May;81(5):637–47.
72. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Oct;8(9-10):1865–79.
73. Lennon SV, Martin SJ, Cotter TG. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif*. 1991 Mar;24(2):203–14.
74. Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys*. 1982 Sep;217(2):401–10.
75. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys*. 1982 Sep;217(2):411–21.
76. Shiloh MU, Nathan CF. Reactive nitrogen intermediates and the pathogenesis of Salmonella and mycobacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2000 Feb;3(1):35–42.
77. Zahrt TC, Deretic V. Reactive nitrogen and oxygen intermediates and bacterial defenses: unusual adaptations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antioxid Redox Signal*. 2002 Feb;4(1):141–59.
78. Weinberger B, Fakhrzadeh L, Heck DE, Laskin JD, Gardner CR, Laskin DL. Inhaled nitric oxide primes lung macrophages to produce reactive oxygen and nitrogen intermediates. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Sep;158(3):931–8.
79. Shah SS, Ohlsson A, Halliday H, Shah VS. Inhaled versus systemic corticosteroids for the treatment of chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2):CD002057.
80. Pittet JF, Mackersie RC, Martin TR, Matthay MA. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Apr;155(4):1187–205.
81. Quinlan GJ, Lamb NJ, Evans TW, Gutteridge JM. Plasma fatty acid changes and increased lipid peroxidation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 1996 Feb;24(2):241–6.
82. Lamb NJ, Gutteridge JM, Baker C, Evans TW, Quinlan GJ. Oxidative damage to proteins of bronchoalveolar lavage fluid in patients with acute respiratory distress syndrome: evidence for neutrophil-mediated hydroxylation, nitration, and chlorination. *Crit Care Med*. 1999 Sep;27(9):1738–44.
83. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, Matalon S. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. *Chest*. 2002 Dec;122(6 Suppl):314S – 320S.

84. Quinlan GJ, Lamb NJ, Tilley R, Evans TW, Gutteridge JM. Plasma hypoxanthine levels in ARDS: implications for oxidative stress, morbidity, and mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Feb;155(2):479–84.
85. Funakoshi T, Ishibe Y, Okazaki N, Miura K, Liu R, Nagai S, et al. Effect of re-expansion after short-period lung collapse on pulmonary capillary permeability and pro-inflammatory cytokine gene expression in isolated rabbit lungs. *Br J Anaesth.* 2004 Apr;92(4):558–63.
86. Krishnadasan B, Naidu BV, Byrne K, Fraga C, Verrier ED, Mulligan MS. The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Feb;125(2):261–72.
87. Casanova J, Garutti I, Simon C, Giraldez A, Martin B, Gonzalez G, et al. The Effects of Anesthetic Preconditioning with Sevoflurane in an Experimental Lung Autotransplant Model in Pigs. *Anesth Analg.* 2011 Oct 1;113(4):742–8.
88. Nys M, Preiser JC, Deby-Dupont G, Habraken Y, Mathy-Hartert M, Damas P, et al. Nitric oxide-related products and myeloperoxidase in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ALI activate NF-kappa B in alveolar cells and monocytes. *Vascul Pharmacol.* 2005 Dec;43(6):425–33.
89. Nys M, Deby-Dupont G, Habraken Y, Legrand-Poels S, Kohnen S, Ledoux D, et al. Bronchoalveolar lavage fluids of ventilated patients with acute lung injury activate NF-kappaB in alveolar epithelial cell line: role of reactive oxygen/nitrogen species and cytokines. *Nitric Oxide.* 2003 Aug;9(1):33–43.
90. Gadek JE, DeMichele SJ, Karlstad MD, Pacht ER, Donahoe M, Albertson TE, et al. Effect of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid, and antioxidants in patients with acute respiratory distress syndrome. Enteral Nutrition in ARDS Study Group. *Crit Care Med.* 1999 Aug;27(8):1409–20.
91. Misthos P, Katsaragakis S, Milingos N, Kakaris S, Sepsas E, Athanassiadi K, et al. Postresectional pulmonary oxidative stress in lung cancer patients. The role of one-lung ventilation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005 Mar;27(3):379–82; discussion 382–3.
92. Misthos P. The Degree of Oxidative Stress Is Associated with Major Adverse Effects After Lung Resection: A Prospective Study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006 Apr 1;29(4):591–5.
93. Licker M, Spiliopoulos A, Frey J-G, Robert J, Höhn L, de Perrot M, et al. Risk factors for early mortality and major complications following pneumonectomy for non-small cell carcinoma of the lung. *Chest.* 2002 Jun;121(6):1890–7.
94. Deslauriers J, Ginsberg RJ, Piantadosi S, Fournier B. PRospective assessment of 30-day operative morbidity for surgical resections in lung cancer. *Chest.* 1994 Dec 1;106(6_Supplement):329S – 330S.
95. Shander A, Fleisher LA, Barie PS, Bigatello LM, Sladen RN, Watson CB. Clinical and economic burden of postoperative pulmonary complications: patient safety summit on definition, risk-reducing interventions, and preventive strategies. *Crit Care Med.* 2011 Sep;39(9):2163–72.
96. Futier E, Jaber S. Lung-protective ventilation in abdominal surgery. *Curr Opin Crit Care.* 2014 Jun 12;
97. Tang SSK, Redmond K, Griffiths M, Ladas G, Goldstraw P, Dusmet M. The mortality from acute respiratory distress syndrome after pulmonary resection is reducing: a 10-year single institutional experience. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2008 Oct 1;34(4):898–902.
98. Zeldin RA, Normandin D, Landtwing D, Peters RM. Postpneumonectomy

- pulmonary edema. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1984 Mar;87(3):359–65.
99. Ferguson ND, Fan E, Camporota L, Antonelli M, Anzueto A, Beale R, et al. The Berlin definition of ARDS: an expanded rationale, justification, and supplementary material. *Intensive Care Med.* 2012 Oct;38(10):1573–82.
 100. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 Mar;149(3 Pt 1):818–24.
 101. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. Report of the American-European Consensus conference on acute respiratory distress syndrome: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Consensus Committee. *J Crit Care.* 1994 Mar;9(1):72–81.
 102. Frutos-Vivar F, Nin N, Esteban A. Epidemiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care.* 2004 Feb;10(1):1–6.
 103. Wind J, Versteegt J, Twisk J, van der Werf TS, Bindels AJGH, Spijkstra J-J, et al. Epidemiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in The Netherlands: a survey. *Respir Med.* 2007 Oct;101(10):2091–8.
 104. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome in Ireland: a prospective audit of epidemiology and management. *Crit Care.* 2008;12(1):R30.
 105. MacCallum NS, Evans TW. Epidemiology of acute lung injury. *Curr Opin Crit Care.* 2005 Feb;11(1):43–9.
 106. Slinger P. Perioperative lung injury. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2008 Mar;22(1):177–91.
 107. Luh S, Chiang C. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2007 Jan;8(1):60–9.
 108. Vanderbilt JN, Mager EM, Allen L, Sawa T, Wiener-Kronish J, Gonzalez R, et al. CXC chemokines and their receptors are expressed in type II cells and upregulated following lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003 Dec;29(6):661–8.
 109. Martin TR, Hagimoto N, Nakamura M, Matute-Bello G. Apoptosis and epithelial injury in the lungs. *Proc Am Thorac Soc.* 2005;2(3):214–20.
 110. Tomashefski JF Jr. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med.* 2000 Sep;21(3):435–66.
 111. Ichinose Y, Hara N, Ohta M, Hayashi S, Yagawa K. Appearance of thrombosis-inducing activity in the plasma of patients undergoing pulmonary resection. *Chest.* 1991 Sep;100(3):693–7.
 112. Swiniarska J, Zekanowska E, Dancewicz M, Bella M, Szczesny TJ, Kowalewski J. Pneumonectomy due to lung cancer results in a more pronounced activation of coagulation system than lobectomy. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009 Dec;36(6):1064–8.
 113. Song S-W, Lee H-S, Kim MS, Lee JM, Kim JH, Nam B-H, et al. Preoperative serum fibrinogen level predicts postoperative pulmonary complications after lung cancer resection. *Ann Thorac Surg.* 2006 Jun;81(6):1974–81.
 114. Welty-Wolf KE, Carraway MS, Ortel TL, Piantadosi CA. Coagulation and inflammation in acute lung injury. *Thromb Haemost.* 2002 Jul;88(1):17–25.
 115. Wygrecka M, Jablonska E, Guenther A, Preissner KT, Markart P. Current view on alveolar coagulation and fibrinolysis in acute inflammatory and chronic interstitial lung diseases. *Thromb Haemost.* 2008 Mar;99(3):494–501.

116. Bastarache JA, Wang L, Geiser T, Wang Z, Albertine KH, Matthay MA, et al. The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor. *Thorax*. 2007 Jul;62(7):608–16.
117. Günther A, Mosavi P, Ruppert C, Heinemann S, Temmesfeld B, Velcovsky HG, et al. Enhanced tissue factor pathway activity and fibrin turnover in the alveolar compartment of patients with interstitial lung disease. *Thromb Haemost*. 2000 Jun;83(6):853–60.
118. Ware LB, Matthay MA, Parsons PE, Thompson BT, Januzzi JL, Eisner MD. Pathogenetic and prognostic significance of altered coagulation and fibrinolysis in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2007 Aug;35(8):1821–8.
119. Guidot DM, Roman J. Chronic ethanol ingestion increases susceptibility to acute lung injury: role of oxidative stress and tissue remodeling. *Chest*. 2002 Dec;122(6 Suppl):309S – 314S.
120. Petrucci N, Iacovelli W. Ventilation with lower tidal volumes versus traditional tidal volumes in adults for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(2):CD003844.
121. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med*. 2000 May 4;342(18):1301–8.
122. Gillespie DJ, Marsh HM, Divertie MB, Meadows JA 3rd. Clinical outcome of respiratory failure in patients requiring prolonged (greater than 24 hours) mechanical ventilation. *Chest*. 1986 Sep;90(3):364–9.
123. Hudson LD. Survival data in patients with acute and chronic lung disease requiring mechanical ventilation. *Am Rev Respir Dis*. 1989 Aug;140(2 Pt 2):S19–24.
124. Gritti G, Ragazzi R, Righini ER, Pavoni V, Paparella L, Alvisi R, et al. [Survival in intensive care of patients with chronic obstructive bronchopneumopathy and acute respiratory failure undergoing mechanical ventilation. Retrospective study]. *Minerva Anestesiol*. 1994 Dec;60(12):695–705.
125. Weiss SM, Hudson LD. Outcome from respiratory failure. *Crit Care Clin*. 1994 Jan;10(1):197–215.
126. Rodríguez-Baño J. Treatment of sepsis-related organ dysfunction. *JAMA*. 2012 Sep 26;308(12):1205–6; author reply 1206–7.
127. Ballard-Croft C, Maass DL, Sikes P, White J, Horton J. Activation of stress-responsive pathways by the sympathetic nervous system in burn trauma. *Shock*. 2002 Jul;18(1):38–45.
128. Chu EK, Whitehead T, Slutsky AS. Effects of cyclic opening and closing at low- and high-volume ventilation on bronchoalveolar lavage cytokines. *Crit Care Med*. 2004 Jan;32(1):168–74.
129. D’Angelo E, Koutsoukou A, Valle PD, Gentile G, Pecchiari M. Cytokine release, small airway injury, and parenchymal damage during mechanical ventilation in normal open-chest rats. *J Appl Physiol*. 2008 Jan 1;104(1):41–9.
130. Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998 Dec;110(6):482–8.
131. Yim AP, Wan S, Lee TW, Arifi AA. VATS lobectomy reduces cytokine responses compared with conventional surgery. *Ann Thorac Surg*. 2000 Jul;70(1):243–7.

132. Sugi K, Kaneda Y, Esato K. Video-assisted thoracoscopic lobectomy reduces cytokine production more than conventional open lobectomy. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000 Mar;48(3):161–5.
133. Nagahiro I, Andou A, Aoe M, Sano Y, Date H, Shimizu N. Pulmonary function, postoperative pain, and serum cytokine level after lobectomy: a comparison of VATS and conventional procedure. *Ann Thorac Surg.* 2001 Aug;72(2):362–5.
134. Whitson BA, Groth SS, Duval SJ, Swanson SJ, Maddaus MA. Surgery for early-stage non-small cell lung cancer: a systematic review of the video-assisted thoracoscopic surgery versus thoracotomy approaches to lobectomy. *Ann Thorac Surg.* 2008 Dec;86(6):2008–16; discussion 2016–8.
135. Craig SR, Leaver HA, Yap PL, Pugh GC, Walker WS. Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001 Sep;20(3):455–63.
136. Whitson BA, D'Cunha J, Andrade RS, Kelly RF, Groth SS, Wu B, et al. Thoracoscopic versus thoracotomy approaches to lobectomy: differential impairment of cellular immunity. *Ann Thorac Surg.* 2008 Dec;86(6):1735–44.
137. Zhang H, Downey GP, Suter PM, Slutsky AS, Ranieri VM. Conventional mechanical ventilation is associated with bronchoalveolar lavage-induced activation of polymorphonuclear leukocytes: a possible mechanism to explain the systemic consequences of ventilator-induced lung injury in patients with ARDS. *Anesthesiology.* 2002 Dec;97(6):1426–33.
138. McPhee SJ, Ganong WF, Lingappa VR. *Pathophysiology of Disease.* 4th ed. McGraw-Hill/Appleton & Lange; 2002. 760 p.
139. Idell S, Kucich U, Fein A, Kueppers F, James HL, Walsh PN, et al. Neutrophil elastase-releasing factors in bronchoalveolar lavage from patients with adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis.* 1985 Nov;132(5):1098–105.
140. Fowler AA, Hyers TM, Fisher BJ, Bechard DE, Centor RM, Webster RO. The adult respiratory distress syndrome. Cell populations and soluble mediators in the air spaces of patients at high risk. *Am Rev Respir Dis.* 1987 Nov;136(5):1225–31.
141. Weiland JE, Davis WB, Holter JF, Mohammed JR, Dorinsky PM, Gadek JE. Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. Clinical and pathophysiologic significance. *Am Rev Respir Dis.* 1986 Feb;133(2):218–25.
142. Steinberg KP, Milberg JA, Martin TR, Maunder RJ, Cockrill BA, Hudson LD. Evolution of bronchoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 Jul;150(1):113–22.
143. Kawabata K, Hagio T, Matsumoto S, Nakao S, Orita S, Aze Y, et al. Delayed neutrophil elastase inhibition prevents subsequent progression of acute lung injury induced by endotoxin inhalation in hamsters. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Jun;161(6):2013–8.
144. Kawano T, Mori S, Cybulsky M, Burger R, Ballin A, Cutz E, et al. Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J Appl Physiol.* 1987 Jan;62(1):27–33.
145. Shasby DM, Fox RB, Harada RN, Repine JE. Reduction of the edema of acute hyperoxic lung injury by granulocyte depletion. *J Appl Physiol.* 1982 May;52(5):1237–44.
146. Folz RJ, Abushamaa AM, Suliman HB. Extracellular superoxide dismutase in the airways of transgenic mice reduces inflammation and attenuates lung toxicity following hyperoxia. *J Clin Invest.* 1999 Apr;103(7):1055–66.
147. Rinaldo JE, Borovetz H. Deterioration of oxygenation and abnormal lung

- microvascular permeability during resolution of leukopenia in patients with diffuse lung injury. *Am Rev Respir Dis*. 1985 Apr;131(4):579–83.
148. Ognibene FP, Martin SE, Parker MM, Schlesinger T, Roach P, Burch C, et al. Adult respiratory distress syndrome in patients with severe neutropenia. *N Engl J Med*. 1986 Aug 28;315(9):547–51.
 149. Maunder RJ, Hackman RC, Riff E, Albert RK, Springmeyer SC. Occurrence of the adult respiratory distress syndrome in neutropenic patients. *Am Rev Respir Dis*. 1986 Feb;133(2):313–6.
 150. Laufe MD, Simon RH, Flint A, Keller JB. Adult respiratory distress syndrome in neutropenic patients. *Am J Med*. 1986 Jun;80(6):1022–6.
 151. Sivan Y, Mor C, al-Jundi S, Newth CJ. Adult respiratory distress syndrome in severely neutropenic children. *Pediatr Pulmonol*. 1990;8(2):104–8.
 152. Martin TR, Pistorese BP, Chi EY, Goodman RB, Matthay MA. Effects of leukotriene B₄ in the human lung. Recruitment of neutrophils into the alveolar spaces without a change in protein permeability. *J Clin Invest*. 1989 Nov;84(5):1609–19.
 153. Belperio JA, Keane MP, Lynch JP 3rd, Strieter RM. The role of cytokines during the pathogenesis of ventilator-associated and ventilator-induced lung injury. *Semin Respir Crit Care Med*. 2006 Aug;27(4):350–64.
 154. Lackie J. *A Dictionary of Biomedicine*. Oxford University Press; 2010. 618 p.
 155. Murdoch C, Finn A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood*. 2000 May 15;95(10):3032–43.
 156. Papadakis KA, Targan SR. The role of chemokines and chemokine receptors in mucosal inflammation. *Inflamm Bowel Dis*. 2000 Nov;6(4):303–13.
 157. Kettritz R, Gaido ML, Haller H, Luft FC, Jennette CJ, Falk RJ. Interleukin-8 delays spontaneous and tumor necrosis factor- α -mediated apoptosis of human neutrophils. *Kidney Int*. 1998 Jan;53(1):84–91.
 158. Dunican A, Grutkoski P, Leuenroth S, Ayala A, Simms HH. Neutrophils regulate their own apoptosis via preservation of CXC receptors. *J Surg Res*. 2000 May 1;90(1):32–8.
 159. Dunican AL, Leuenroth SJ, Ayala A, Simms HH. CXC chemokine suppression of polymorphonuclear leukocytes apoptosis and preservation of function is oxidative stress independent. *Shock*. 2000 Mar;13(3):244–50.
 160. Yamamoto H, Teramoto H, Uetani K, Igawa K, Shimizu E. Cyclic stretch upregulates interleukin-8 and transforming growth factor- β 1 production through a protein kinase C-dependent pathway in alveolar epithelial cells. *Respirology*. 2002 Jun;7(2):103–9.
 161. Jafari B, Ouyang B, Li L-F, Hales CA, Quinn DA. Intracellular glutathione in stretch-induced cytokine release from alveolar type-2 like cells. *Respirology*. 2004 Mar;9(1):43–53.
 162. Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, Londhe V, Xue YY, Li K, et al. Critical role for CXCR2 and CXCR2 ligands during the pathogenesis of ventilator-induced lung injury. *J Clin Invest*. 2002 Dec;110(11):1703–16.
 163. Strieter RM, Keane MP, Burdick MD, Sakkour A, Murray LA, Belperio JA. The role of CXCR2/CXCR2 ligands in acute lung injury. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005 Jun;4(3):299–303.
 164. Sue RD, Belperio JA, Burdick MD, Murray LA, Xue YY, Dy MC, et al. CXCR2 is critical to hyperoxia-induced lung injury. *J Immunol*. 2004 Mar 15;172(6):3860–8.
 165. Jorens PG, Van Damme J, De Backer W, Bossaert L, De Jongh RF, Herman AG,

- et al. Interleukin 8 (IL-8) in the bronchoalveolar lavage fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome (ARDS) and patients at risk for ARDS. *Cytokine*. 1992 Nov;4(6):592-7.
166. Miller EJ, Cohen AB, Nagao S, Griffith D, Maunder RJ, Martin TR, et al. Elevated levels of NAP-1/interleukin-8 are present in the airspaces of patients with the adult respiratory distress syndrome and are associated with increased mortality. *Am Rev Respir Dis*. 1992 Aug;146(2):427-32.
 167. Villard J, Dayer-Pastore F, Hamacher J, Aubert JD, Schlegel-Haueter S, Nicod LP. GRO alpha and interleukin-8 in *Pneumocystis carinii* or bacterial pneumonia and adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Nov;152(5 Pt 1):1549-54.
 168. Kurdowska A, Noble JM, Grant IS, Robertson CR, Haslett C, Donnelly SC. Anti-interleukin-8 autoantibodies in patients at risk for acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2002 Oct;30(10):2335-7.
 169. Fudala R, Krupa A, Stankowska D, Allen TC, Kurdowska AK. Anti-interleukin-8 autoantibody:interleukin-8 immune complexes in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Clin Sci*. 2008 Mar;114(6):403-12.
 170. Kurdowska A, Noble JM, Steinberg KP, Ruzinski JT, Hudson LD, Martin TR. Anti-interleukin 8 autoantibody: interleukin 8 complexes in the acute respiratory distress syndrome. Relationship between the complexes and clinical disease activity. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Feb;163(2):463-8.
 171. Kurdowska A, Miller EJ, Noble JM, Baughman RP, Matthay MA, Brelsford WG, et al. Anti-IL-8 autoantibodies in alveolar fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome. *J Immunol*. 1996 Sep 15;157(6):2699-706.
 172. Finkelman FD, Madden KB, Morris SC, Holmes JM, Boiani N, Katona IM, et al. Anti-cytokine antibodies as carrier proteins. Prolongation of in vivo effects of exogenous cytokines by injection of cytokine-anti-cytokine antibody complexes. *J Immunol*. 1993 Aug 1;151(3):1235-44.
 173. Marsh CB, Lowe MP, Rovin BH, Parker JM, Liao Z, Knoell DL, et al. Lymphocytes produce IL-1beta in response to Fcgamma receptor cross-linking: effects on parenchymal cell IL-8 release. *J Immunol*. 1998 Apr 15;160(8):3942-8.
 174. Van der Meide PH, Schellekens H. Anti-cytokine autoantibodies: epiphenomenon or critical modulators of cytokine action. *Biotherapy*. 1997;10(1):39-48.
 175. Dinarello CA. Interleukin-1. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1997 Dec;8(4):253-65.
 176. McMahan CJ, Slack JL, Mosley B, Cosman D, Lupton SD, Brunton LL, et al. A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *EMBO J*. 1991 Oct;10(10):2821-32.
 177. Burger D, Chicheportiche R, Giri JG, Dayer JM. The inhibitory activity of human interleukin-1 receptor antagonist is enhanced by type II interleukin-1 soluble receptor and hindered by type I interleukin-1 soluble receptor. *Journal of Clinical Investigation*. 1995 Jul 1;96(1):38-41.
 178. Jensen LE, Muzio M, Mantovani A, Whitehead AS. IL-1 Signaling Cascade in Liver Cells and the Involvement of a Soluble Form of the IL-1 Receptor Accessory Protein. *J Immunol*. 2000 May 15;164(10):5277-86.
 179. Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol*. 1993;54:167-227.
 180. Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, Ruzinski JT, Radella F 2nd, Park DR, et

- al. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Nov 15;164(10 Pt 1):1896–903.
181. Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1999 Jul 7;282(1):54–61.
182. Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ, et al. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Sep;154(3 Pt 1):602–11.
183. Donnelly SC, Strieter RM, Reid PT, Kunkel SL, Burdick MD, Armstrong I, et al. The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist in the lung fluids of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med*. 1996 Aug 1;125(3):191–6.
184. Ricard JD, Dreyfuss D, Saumon G. Production of inflammatory cytokines in ventilator-induced lung injury: a reappraisal. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Apr;163(5):1176–80.
185. Narimanbekov IO, Rozycki HJ. Effect of IL-1 blockade on inflammatory manifestations of acute ventilator-induced lung injury in a rabbit model. *Exp Lung Res*. 1995 Apr;21(2):239–54.
186. Olszewski MB, Groot AJ, Dasty J, Knol EF. TNF trafficking to human mast cell granules: mature chain-dependent endocytosis. *J Immunol*. 2007 May 1;178(9):5701–9.
187. Ostensen ME, Thiele DL, Lipsky PE. Tumor necrosis factor- α enhances cytolytic activity of human natural killer cells. *J Immunol*. 1987 Jun 15;138(12):4185–91.
188. Beutler BA. The role of tumor necrosis factor in health and disease. *J Rheumatol Suppl*. 1999 May;57:16–21.
189. Marchetti L, Klein M, Schlett K, Pfizenmaier K, Eisel ULM. Tumor necrosis factor (TNF)-mediated neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity is enhanced by N-methyl-D-aspartate receptor activation. Essential role of a TNF receptor 2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase-dependent NF- κ B pathway. *J Biol Chem*. 2004 Jul 30;279(31):32869–81.
190. Ip YT, Davis RJ. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK)--from inflammation to development. *Curr Opin Cell Biol*. 1998 Apr;10(2):205–19.
191. Vlahopoulos S, Zoumpourlis VC. JNK: a key modulator of intracellular signaling. *Biochemistry Mosc*. 2004 Aug;69(8):844–54.
192. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 2002 May 31;296(5573):1634–5.
193. Frishman JI, Edwards CK, Sonnenberg MG, Kohno T, Cohen AM, Dinarello CA. Tumor Necrosis Factor (TNF)— α —Induced Interleukin-8 in Human Blood Cultures Discriminates Neutralization by the p55 and p75 TNF Soluble Receptors. *J Infect Dis*. 2000 Dec 1;182(6):1722–30.
194. Kato T, Sawamura Y, Tada M, Sakuma S, Sudo M, Abe H. p55 and p75 tumor necrosis factor receptor expression on human glioblastoma cells. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 1995 Aug;35(8):567–74.
195. Waage A, Liabakk N, Lien E, Lamvik J, Espevik T. p55 and p75 tumor necrosis factor receptors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1992 Nov 15;80(10):2577–83.

196. Meduri GU, Kohler G, Headley S, Tolley E, Stentz F, Postlethwaite A. Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. Persistent elevation over time predicts poor outcome. *Chest*. 1995 Nov;108(5):1303–14.
197. Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, et al. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest*. 1995 Apr;107(4):1062–73.
198. Hyers TM, Tricomi SM, Dettenmeier PA, Fowler AA. Tumor necrosis factor levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis*. 1991 Aug;144(2):268–71.
199. Agouridakis P, Kyriakou D, Alexandrakis MG, Prekates A, Perisinakis K, Karkavitsas N, et al. The predictive role of serum and bronchoalveolar lavage cytokines and adhesion molecules for acute respiratory distress syndrome development and outcome. *Respir Res*. 2002;3:25.
200. Imai Y, Kawano T, Iwamoto S, Nakagawa S, Takata M, Miyasaka K. Intratracheal anti-tumor necrosis factor-alpha antibody attenuates ventilator-induced lung injury in rabbits. *J Appl Physiol*. 1999 Aug;87(2):510–5.
201. Abraham E, Laterre PF, Garbino J, Pingleton S, Butler T, Dugernier T, et al. Lenercept (p55 tumor necrosis factor receptor fusion protein) in severe sepsis and early septic shock: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter phase III trial with 1,342 patients. *Crit Care Med*. 2001 Mar;29(3):503–10.
202. Abraham E, Anzueto A, Gutierrez G, Tessler S, San Pedro G, Wunderink R, et al. Double-blind randomised controlled trial of monoclonal antibody to human tumour necrosis factor in treatment of septic shock. NORASEPT II Study Group. *Lancet*. 1998 Mar 28;351(9107):929–33.
203. Abraham E, Glauser MP, Butler T, Garbino J, Gelmont D, Laterre PF, et al. p55 Tumor necrosis factor receptor fusion protein in the treatment of patients with severe sepsis and septic shock. A randomized controlled multicenter trial. Ro 45-2081 Study Group. *JAMA*. 1997 May 21;277(19):1531–8.
204. Abraham E, Wunderink R, Silverman H, Perl TM, Nasraway S, Levy H, et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome. A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha MAb Sepsis Study Group. *JAMA*. 1995 Mar 22;273(12):934–41.
205. Cantrell DA, Smith KA. The interleukin-2 T-cell system: a new cell growth model. *Science*. 1984 Jun 22;224(4655):1312–6.
206. Smith KA. Interleukin 2. *Annu Rev Immunol*. 1984;2:319–33.
207. Larsson EL. Interleukin-2 (IL-2) and its receptor. *Med Oncol Tumor Pharmacother*. 1986;3(3-4):231–6.
208. Pericle F, Liu JH, Diaz JI, Blanchard DK, Wei S, Forni G, et al. Interleukin-2 prevention of apoptosis in human neutrophils. *Eur J Immunol*. 1994 Feb;24(2):440–4.
209. Agouridakis P, Kyriakou D, Alexandrakis MG, Perisinakis K, Karkavitsas N, Bouros D. Association between increased levels of IL-2 and IL-15 and outcome in patients with early acute respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2002 Nov;32(11):862–7.
210. Lesur O, Kokis A, Hermans C, Fülöp T, Bernard A, Lane D. Interleukin-2 involvement in early acute respiratory distress syndrome: relationship with polymorphonuclear neutrophil apoptosis and patient survival. *Crit Care Med*. 2000

Dec;28(12):3814–22.

211. Weiss GR, Margolin KA, Aronson FR, Sznol M, Atkins MB, Dutcher JP, et al. A randomized phase II trial of continuous infusion interleukin-2 or bolus injection interleukin-2 plus lymphokine-activated killer cells for advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 1992 Feb;10(2):275–81.

212. Dutcher J, Atkins MB, Margolin K, Weiss G, Clark J, Sosman J, et al. Kidney cancer: the Cytokine Working Group experience (1986-2001): part II. Management of IL-2 toxicity and studies with other cytokines. *Med Oncol*. 2001;18(3):209–19.

213. Margolin KA. Interleukin-2 in the treatment of renal cancer. *Semin Oncol*. 2000 Apr;27(2):194–203.

214. Margolin KA, Rayner AA, Hawkins MJ, Atkins MB, Dutcher JP, Fisher RI, et al. Interleukin-2 and lymphokine-activated killer cell therapy of solid tumors: analysis of toxicity and management guidelines. *J Clin Oncol*. 1989 Apr;7(4):486–98.

215. Brichon PY, Barnoud D, Pison C, Perez I, Guignier M. Double lung transplantation for adult respiratory distress syndrome after recombinant interleukin 2. *Chest*. 1993 Aug;104(2):609–10.

216. Farrell MM. The challenge of adult respiratory distress syndrome during interleukin-2 immunotherapy. *Oncol Nurs Forum*. 1992 Apr;19(3):475–80.

217. Neville LF, Abdullah F, McDonnell PM, Young PR, Feuerstein GZ, Rabinovici R. Mob-1 expression in IL-2-induced ARDS: regulation by TNF-alpha. *Am J Physiol*. 1995 Dec;269(6 Pt 1):L884–90.

218. Neville LF, Abdullah F, Whiteford M, Ovadia P, Feuerstein GZ, Rabinovici R. Application of differential display to isolate novel genes in interleukin-2-induced adult respiratory distress syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 1996 Oct 31;796:257–71.

219. Xu LL, Warren MK, Rose WL, Gong W, Wang JM. Human recombinant monocyte chemotactic protein and other C-C chemokines bind and induce directional migration of dendritic cells in vitro. *J Leukoc Biol*. 1996 Sep;60(3):365–71.

220. Roth SJ, Carr MW, Springer TA. C-C chemokines, but not the C-X-C chemokines interleukin-8 and interferon-gamma inducible protein-10, stimulate transendothelial chemotaxis of T lymphocytes. *Eur J Immunol*. 1995 Dec;25(12):3482–8.

221. Qin S, LaRosa G, Campbell JJ, Smith-Heath H, Kassam N, Shi X, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 receptors on subsets of T cells: correlation with transendothelial chemotactic potential. *Eur J Immunol*. 1996 Mar;26(3):640–7.

222. Cai K, Qi D, Hou X, Wang O, Chen J, Deng B, et al. MCP-1 Upregulates Amylin Expression in Murine Pancreatic β Cells through ERK/JNK-AP1 and NF- κ B Related Signaling Pathways Independent of CCR2. *PLoS One* [Internet]. 2011 May 11 [cited 2012 Oct 15];6(5). Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3092759/>

223. Werle M, Schmal U, Hanna K, Kreuzer J. MCP-1 induces activation of MAP-kinases ERK, JNK and p38 MAPK in human endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 2002 Nov;56(2):284–92.

224. Viedt C, Dechend R, Fei J, Hänsch GM, Kreuzer J, Orth SR. MCP-1 induces inflammatory activation of human tubular epithelial cells: involvement of the transcription factors, nuclear factor-kappaB and activating protein-1. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Jun;13(6):1534–47.

225. Sodhi A, Biswas SK. Monocyte chemoattractant protein-1-induced activation

of p42/44 MAPK and c-Jun in murine peritoneal macrophages: a potential pathway for macrophage activation. *J Interferon Cytokine Res.* 2002 May;22(5):517–26.

226. Rosseau S, Hammerl P, Maus U, Walmrath HD, Schütte H, Grimminger F, et al. Phenotypic characterization of alveolar monocyte recruitment in acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Jul;279(1):L25–35.

227. Lin W-C, Lin C-F, Chen C-L, Chen C-W, Lin Y-S. Prediction of outcome in patients with acute respiratory distress syndrome by bronchoalveolar lavage inflammatory mediators. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010 Jan;235(1):57–65.

228. Zhao X, Dib M, Andersson E, Shi C, Widegren B, Wang X, et al. Alterations of adhesion molecule expression and inflammatory mediators in acute lung injury induced by septic and non-septic challenges. *Lung.* 2005 Apr;183(2):87–100.

229. Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, Lynch JP 3rd, Xue YY, Berlin A, et al. Critical role for the chemokine MCP-1/CCR2 in the pathogenesis of bronchiolitis obliterans syndrome. *J Clin Invest.* 2001 Aug;108(4):547–56.

230. Moore BB, Paine R 3rd, Christensen PJ, Moore TA, Sitterding S, Ngan R, et al. Protection from pulmonary fibrosis in the absence of CCR2 signaling. *J Immunol.* 2001 Oct 15;167(8):4368–77.

231. Okuma T, Terasaki Y, Sakashita N, Kaikita K, Kobayashi H, Hayasaki T, et al. MCP-1/CCR2 signalling pathway regulates hyperoxia-induced acute lung injury via nitric oxide production. *Int J Exp Pathol.* 2006 Dec;87(6):475–83.

232. Akira S, Isshiki H, Nakajima T, Kinoshita S, Nishio Y, Natsuka S, et al. Regulation of expression of the interleukin 6 gene: structure and function of the transcription factor NF-IL6. *Ciba Found Symp.* 1992;167:47–62; discussion 62–7.

233. Kishimoto T. Interleukin-6 and its receptor in autoimmunity. *J Autoimmun.* 1992 Apr;5 Suppl A:123–32.

234. Kishimoto T, Akira S, Taga T. IL-6 receptor and mechanism of signal transduction. *Int J Immunopharmacol.* 1992 Apr;14(3):431–8.

235. Kishimoto T, Taga T, Akira S. Cytokine signal transduction. *Cell.* 1994 Jan 28;76(2):253–62.

236. Rose-John S, Scheller J, Elson G, Jones SA. Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *J Leukoc Biol.* 2006 Aug;80(2):227–36.

237. Knüpfner H, Preiss R. sIL-6R: more than an agonist? *Immunol Cell Biol.* 2008 Jan;86(1):87–91.

238. Jones SA, Richards PJ, Scheller J, Rose-John S. IL-6 transsignaling: the in vivo consequences. *J Interferon Cytokine Res.* 2005 May;25(5):241–53.

239. Bhatia M, Moochhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *J Pathol.* 2004 Feb;202(2):145–56.

240. Severgnini M, Takahashi S, Rozo LM, Homer RJ, Kuhn C, Jhung JW, et al. Activation of the STAT pathway in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2004 Jun;286(6):L1282–92.

241. Remick DG, Bolgos GR, Siddiqui J, Shin J, Nemzek JA. Six at six: interleukin-6 measured 6 h after the initiation of sepsis predicts mortality over 3 days. *Shock.* 2002 Jun;17(6):463–7.

242. Leser HG, Gross V, Scheibenbogen C, Heinisch A, Salm R, Lausen M, et al. Elevation of serum interleukin-6 concentration precedes acute-phase response and reflects severity in acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 1991

Sep;101(3):782–5.

243. Haitsma JJ, Uhlig S, Verbrugge SJ, Göggel R, Poelma DLH, Lachmann B. Injurious ventilation strategies cause systemic release of IL-6 and MIP-2 in rats in vivo. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2003 Nov;23(6):349–53.
244. Gurkan OU, O'Donnell C, Brower R, Ruckdeschel E, Becker PM. Differential effects of mechanical ventilatory strategy on lung injury and systemic organ inflammation in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003 Sep;285(3):L710–8.
245. Henzler D, Hochhausen N, Chankalal R, Xu Z, Whynot SC, Slutsky AS, et al. Physiologic and biologic characteristics of three experimental models of acute lung injury in rats. *Anesth Analg*. 2011 May;112(5):1139–46.
246. Spits H, de Waal Malefyt R. Functional characterization of human IL-10. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;99(1):8–15.
247. Wanidworanun C, Strober W. Predominant role of tumor necrosis factor- α in human monocyte IL-10 synthesis. *J Immunol*. 1993 Dec 15;151(12):6853–61.
248. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol*. 1993;11:165–90.
249. De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991 Nov 1;174(5):1209–20.
250. Zdanov A. Structural analysis of cytokines comprising the IL-10 family. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010 Oct;21(5):325–30.
251. Josephson K, Logsdon NJ, Walter MR. Crystal structure of the IL-10/IL-10R1 complex reveals a shared receptor binding site. *Immunity*. 2001 Jul;15(1):35–46.
252. Armstrong L, Millar AB. Relative production of tumour necrosis factor α and interleukin 10 in adult respiratory distress syndrome. *Thorax*. 1997 May;52(5):442–6.
253. Inoue G. Effect of interleukin-10 (IL-10) on experimental LPS-induced acute lung injury. *J Infect Chemother*. 2000 Mar;6(1):51–60.
254. Santucci L, Fiorucci S, Chiorean M, Brunori PM, Di Matteo FM, Sidoni A, et al. Interleukin 10 reduces lethality and hepatic injury induced by lipopolysaccharide in galactosamine-sensitized mice. *Gastroenterology*. 1996 Sep;111(3):736–44.
255. Nagaki M, Tanaka M, Sugiyama A, Ohnishi H, Moriwaki H. Interleukin-10 inhibits hepatic injury and tumor necrosis factor- α and interferon- γ mRNA expression induced by staphylococcal enterotoxin B or lipopolysaccharide in galactosamine-sensitized mice. *J Hepatol*. 1999 Nov;31(5):815–24.
256. Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, McFadden DW, Reber HA. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery*. 1996 Aug;120(2):284–8; discussion 289.
257. Rongione AJ, Kusske AM, Reber HA, Ashley SW, McFadden DW. Interleukin-10 reduces circulating levels of serum cytokines in experimental pancreatitis. *J Gastrointest Surg*. 1997 Apr;1(2):159–65; discussion 165–6.
258. Bean AG, Freiberg RA, Andrade S, Menon S, Zlotnik A. Interleukin 10 protects mice against staphylococcal enterotoxin B-induced lethal shock. *Infect Immun*. 1993 Nov;61(11):4937–9.
259. Gutkind JS. Cell growth control by G protein-coupled receptors: from signal transduction to signal integration. *Oncogene*. 1998 Sep 17;17(11 Reviews):1331–42.

260. Gutkind JS. The pathways connecting G protein-coupled receptors to the nucleus through divergent mitogen-activated protein kinase cascades. *J Biol Chem.* 1998 Jan 23;273(4):1839–42.
261. Khosravi-Far R, Campbell S, Rossman KL, Der CJ. Increasing complexity of Ras signal transduction: involvement of Rho family proteins. *Adv Cancer Res.* 1998;72:57–107.
262. Hislop JN, Henry AG, Marchese A, von Zastrow M. Ubiquitination Regulates Proteolytic Processing of G Protein-coupled Receptors after Their Sorting to Lysosomes. *J Biol Chem.* 2009 Jul 17;284(29):19361–70.
263. Dhanasekaran N, Premkumar Reddy E. Signaling by dual specificity kinases. *Oncogene.* 1998 Sep 17;17(11 Reviews):1447–55.
264. Kiefer F, Tibbles LA, Lassam N, Zanke B, Iscove N, Woodgett JR. Novel components of mammalian stress-activated protein kinase cascades. *Biochem Soc Trans.* 1997 May;25(2):491–8.
265. Elion EA. Routing MAP kinase cascades. *Science.* 1998 Sep 11;281(5383):1625–6.
266. Schaeffer HJ, Weber MJ. Mitogen-activated protein kinases: specific messages from ubiquitous messengers. *Mol Cell Biol.* 1999 Apr;19(4):2435–44.
267. Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2011 Mar;75(1):50–83.
268. Pimienta G, Pascual J. Canonical and alternative MAPK signaling. *Cell Cycle.* 2007 Nov 1;6(21):2628–32.
269. Raman M, Chen W, Cobb MH. Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene.* 2007 May 14;26(22):3100–12.
270. Schindler C. Cytokines and JAK-STAT signaling. *Exp Cell Res.* 1999 Nov 25;253(1):7–14.
271. Heim MH. The Jak-STAT pathway: cytokine signalling from the receptor to the nucleus. *J Recept Signal Transduct Res.* 1999 Jul;19(1-4):75–120.
272. Aaronson DS, Horvath CM. A road map for those who don't know JAK-STAT. *Science.* 2002 May 31;296(5573):1653–5.
273. O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell.* 2002 Apr;109 Suppl:S121–31.
274. Sengupta TK, Schmitt EM, Ivashkiv LB. Inhibition of cytokines and JAK-STAT activation by distinct signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996 Sep 3;93(18):9499–504.
275. Finbloom DS, Larner AC. Regulation of the Jak/STAT signalling pathway. *Cell Signal.* 1995 Nov;7(8):739–45.
276. Murray PJ. The JAK-STAT Signaling Pathway: Input and Output Integration. *J Immunol.* 2007 Mar 1;178(5):2623–9.
277. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev.* 2004 Sep 15;18(18):2195–224.
278. Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:621–63.
279. Rothwarf DM, Karin M. The NF-kappa B activation pathway: a paradigm in information transfer from membrane to nucleus. *Sci STKE.* 1999 Oct 26;1999(5):RE1.
280. Senftleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krähn G, Bonizzi G, et al. Activation by IKKalpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway.

- Science. 2001 Aug 24;293(5534):1495–9.
281. Häcker H, Karin M. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Sci STKE*. 2006 Oct 17;2006(357):re13.
 282. Bonizzi G, Bebién M, Otero DC, Johnson-Vroom KE, Cao Y, Vu D, et al. Activation of IKK α target genes depends on recognition of specific kappaB binding sites by RelB:p52 dimers. *EMBO J*. 2004 Oct 27;23(21):4202–10.
 283. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *British Journal of Cancer*. 1972;26(4):239–57.
 284. Li MO, Sarkisian MR, Mehal WZ, Rakic P, Flavell RA. Phosphatidylserine receptor is required for clearance of apoptotic cells. *Science*. 2003 Nov 28;302(5650):1560–3.
 285. Hong J-R, Lin G-H, Lin CJ-F, Wang W-P, Lee C-C, Lin T-L, et al. Phosphatidylserine receptor is required for the engulfment of dead apoptotic cells and for normal embryonic development in zebrafish. *Development*. 2004 Nov;131(21):5417–27.
 286. Savill J, Gregory C, Haslett C. Cell biology. Eat me or die. *Science*. 2003 Nov 28;302(5650):1516–7.
 287. Mattson MP, Chan SL. Calcium orchestrates apoptosis. *Nature Cell Biology*. 2003;5(12):1041–3.
 288. Brüne B, von Knethen A, Sandau KB. Nitric oxide (NO): an effector of apoptosis. *Cell Death Differ*. 1999 Oct;6(10):969–75.
 289. Elinos-Báez CM, Maldonado V, Meléndez-Zajgla J. [Caspases: apoptosis inducing molecules]. *Gac Med Mex*. 2003 Oct;139(5):493–9.
 290. Caspases: the proteases of the apoptotic pathway. , Published online: 08 January 1999; | doi:101038/sj.onc1202581 [Internet]. 1999 Jan 8 [cited 2012 Oct 17];17(25). Available from: <http://www.nature.com/onc/journal/v17/n25/abs/1202581a.html>
 291. Boatright KM, Salvesen GS. Mechanisms of caspase activation. *Curr Opin Cell Biol*. 2003 Dec;15(6):725–31.
 292. Salvesen GS, Riedl SJ. Caspase mechanisms. *Adv Exp Med Biol*. 2008;615:13–23.
 293. Dejean LM, Martinez-Caballero S, Kinnally KW. Is MAC the knife that cuts cytochrome c from mitochondria during apoptosis? *Cell Death & Differentiation*. 2006;13(8):1387–95.
 294. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell*. 2004 Jan 23;116(2):205–19.
 295. Martinez-Ruiz G, Maldonado V, Ceballos-Cancino G, Grajeda JPR, Melendez-Zajgla J. Role of Smac/DIABLO in cancer progression. *J Exp Clin Cancer Res*. 2008;27:48.
 296. Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans*. 2001 Nov;29(Pt 6):684–8.
 297. Martin TR, Nakamura M, Matute-Bello G. The role of apoptosis in acute lung injury. *Crit Care Med*. 2003 Apr;31(4 Suppl):S184–8.
 298. Galani V, Tatsaki E, Bai M, Kitsoulis P, Lekka M, Nakos G, et al. The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): an up-to-date cell-specific review. *Pathol Res Pract*. 2010 Mar 15;206(3):145–50.
 299. Matute-Bello G, Liles WC, Radella F 2nd, Steinberg KP, Ruzinski JT, Jonas M, et al. Neutrophil apoptosis in the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir*

- Crit Care Med. 1997 Dec;156(6):1969–77.
300. Matute-Bello G, Liles WC, Radella F 2nd, Steinberg KP, Ruzinski JT, Hudson LD, et al. Modulation of neutrophil apoptosis by granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor during the course of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2000 Jan;28(1):1–7.
301. Sookhai S, Wang JJ, McCourt M, Kirwan W, Bouchier-Hayes D, Redmond P. A Novel Therapeutic Strategy for Attenuating Neutrophil-Mediated Lung Injury In Vivo. *Ann Surg.* 2002 Feb;235(2):285–91.
302. Bardales RH, Xie SS, Schaefer RF, Hsu SM. Apoptosis is a major pathway responsible for the resolution of type II pneumocytes in acute lung injury. *Am J Pathol.* 1996 Sep;149(3):845–52.
303. Dosreis GA, Borges VM, Zin WA. The central role of Fas-ligand cell signaling in inflammatory lung diseases. *J Cell Mol Med.* 2004 Sep;8(3):285–93.
304. Albertine KH, Soulier MF, Wang Z, Ishizaka A, Hashimoto S, Zimmerman GA, et al. Fas and fas ligand are up-regulated in pulmonary edema fluid and lung tissue of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Pathol.* 2002 Nov;161(5):1783–96.
305. Kitamura Y, Hashimoto S, Mizuta N, Kobayashi A, Kooguchi K, Fujiwara I, et al. Fas/FasL-dependent apoptosis of alveolar cells after lipopolysaccharide-induced lung injury in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Mar;163(3 Pt 1):762–9.
306. Vernooy JH, Dentener MA, van Suylen RJ, Buurman WA, Wouters EF. Intratracheal instillation of lipopolysaccharide in mice induces apoptosis in bronchial epithelial cells: no role for tumor necrosis factor-alpha and infiltrating neutrophils. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001 May;24(5):569–76.
307. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V, et al. Injurious Mechanical Ventilation and End-Organ Epithelial Cell Apoptosis and Organ Dysfunction in an Experimental Model of Acute Respiratory Distress Syndrome. *JAMA: The Journal of the American Medical Association.* 2003 Abril;289(16):2104–12.
308. Kawasaki M, Kuwano K, Hagimoto N, Matsuba T, Kunitake R, Tanaka T, et al. Protection from lethal apoptosis in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by a caspase inhibitor. *Am J Pathol.* 2000 Aug;157(2):597–603.
309. Van Lint P, Libert C. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. *J Leukoc Biol.* 2007 Dec;82(6):1375–81.
310. Parks WC, Shapiro SD. Matrix metalloproteinases in lung biology. *Respiratory Research.* 2000 Dec 29;2(1):10.
311. Pei D. CA-MMP: a matrix metalloproteinase with a novel cysteine array, but without the classic cysteine switch. *FEBS Lett.* 1999 Aug 27;457(2):262–70.
312. Fligiel SEG, Standiford T, Fligiel HM, Tashkin D, Strieter RM, Warner RL, et al. Matrix metalloproteinases and matrix metalloproteinase inhibitors in acute lung injury. *Hum Pathol.* 2006 Apr;37(4):422–30.
313. Carney DE, Lutz CJ, Picone AL, Gatto LA, Ramamurthy NS, Golub LM, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor prevents acute lung injury after cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1999 Jul 27;100(4):400–6.
314. Steinberg J, Halter J, Schiller HJ, Dasilva M, Landas S, Gatto LA, et al. Metalloproteinase inhibition reduces lung injury and improves survival after cecal ligation and puncture in rats. *J Surg Res.* 2003 May 15;111(2):185–95.

315. Steinberg J, Halter J, Schiller H, Gatto L, Carney D, Lee H-M, et al. Chemically modified tetracycline prevents the development of septic shock and acute respiratory distress syndrome in a clinically applicable porcine model. *Shock*. 2005 Oct;24(4):348–56.
316. Lanchou J, Corbel M, Tanguy M, Germain N, Boichot E, Theret N, et al. Imbalance between matrix metalloproteinases (MMP-9 and MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) in acute respiratory distress syndrome patients. *Crit Care Med*. 2003 Feb;31(2):536–42.
317. Ricou B, Nicod L, Lacraz S, Welgus HG, Suter PM, Dayer JM. Matrix metalloproteinases and TIMP in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Aug;154(2 Pt 1):346–52.
318. Albaiceta GM, Gutiérrez-Fernández A, Parra D, Astudillo A, García-Prieto E, Taboada F, et al. Lack of matrix metalloproteinase-9 worsens ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008 Mar;294(3):L535–43.
319. Owen CA, Hu Z, Lopez-Otin C, Shapiro SD. Membrane-bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *J Immunol*. 2004 Jun 15;172(12):7791–803.
320. Quintero PA, Knolle MD, Cala LF, Zhuang Y, Owen CA. Matrix metalloproteinase-8 inactivates macrophage inflammatory protein-1 alpha to reduce acute lung inflammation and injury in mice. *J Immunol*. 2010 Feb 1;184(3):1575–88.
321. Albaiceta GM, Gutierrez-Fernández A, García-Prieto E, Puente XS, Parra D, Astudillo A, et al. Absence or inhibition of matrix metalloproteinase-8 decreases ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010 Nov;43(5):555–63.
322. Kim JH, Suk MH, Yoon DW, Lee SH, Hur GY, Jung KH, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 prevents neutrophilic inflammation in ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 Oct;291(4):L580–7.
323. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*. 1997;48:489–509.
324. Shaul PW, North AJ, Brannon TS, Ujiie K, Wells LB, Nisen PA, et al. Prolonged in vivo hypoxia enhances nitric oxide synthase type I and type III gene expression in adult rat lung. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 1995 Aug;13(2):167–74.
325. Coggins MP, Bloch KD. Nitric Oxide in the Pulmonary Vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Sep 1;27(9):1877–85.
326. Fagan KA, Tyler RC, Sato K, Fouty BW, Morris KG Jr, Huang PL, et al. Relative contributions of endothelial, inducible, and neuronal NOS to tone in the murine pulmonary circulation. *Am J Physiol*. 1999 Sep;277(3 Pt 1):L472–8.
327. Fagan KA, Fouty BW, Tyler RC, Morris KG Jr, Hepler LK, Sato K, et al. The pulmonary circulation of homozygous or heterozygous eNOS-null mice is hyperresponsive to mild hypoxia. *J Clin Invest*. 1999 Jan;103(2):291–9.
328. Stamler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation*. 1994 May;89(5):2035–40.
329. Han RNN, Stewart DJ. Defective lung vascular development in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Trends Cardiovasc Med*. 2006 Jan;16(1):29–34.
330. Sittipunt C, Steinberg KP, Ruzinski JT, Myles C, Zhu S, Goodman RB, et al.

- Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Feb;163(2):503–10.
331. Su CF, Yang FL, Chen HI. Inhibition of inducible nitric oxide synthase attenuates acute endotoxin-induced lung injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007 Apr;34(4):339–46.
 332. Numata M, Suzuki S, Miyazawa N, Miyashita A, Nagashima Y, Inoue S, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents LPS-induced acute lung injury in dogs. *J Immunol*. 1998 Mar 15;160(6):3031–7.
 333. Szabó C, Saunders C, O'Connor M, Salzman AL. Peroxynitrite causes energy depletion and increases permeability via activation of poly (ADP-ribose) synthetase in pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1997 Feb;16(2):105–9.
 334. Punjabi CJ, Laskin JD, Pendino KJ, Goller NL, Durham SK, Laskin DL. Production of nitric oxide by rat type II pneumocytes: increased expression of inducible nitric oxide synthase following inhalation of a pulmonary irritant. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994 Aug;11(2):165–72.
 335. Pendino KJ, Laskin JD, Shuler RL, Punjabi CJ, Laskin DL. Enhanced production of nitric oxide by rat alveolar macrophages after inhalation of a pulmonary irritant is associated with increased expression of nitric oxide synthase. *J Immunol*. 1993 Dec 15;151(12):7196–205.
 336. Fakhrzadeh L, Laskin JD, Laskin DL. Deficiency in inducible nitric oxide synthase protects mice from ozone-induced lung inflammation and tissue injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002 Apr;26(4):413–9.
 337. Sedoris KC, Ovechkin AV, Gozal E, Roberts AM. Differential effects of nitric oxide synthesis on pulmonary vascular function during lung ischemia-reperfusion injury. *Arch Physiol Biochem*. 2009 Feb;115(1):34–46.
 338. Waller DA, Keavey P, Woodfine L, Dark JH. Pulmonary endothelial permeability changes after major lung resection. *Ann Thorac Surg*. 1996 May;61(5):1435–40.
 339. Williams EA, Quinlan GJ, Goldstraw P, Gothard JW, Evans TW. Postoperative lung injury and oxidative damage in patients undergoing pulmonary resection. *Eur Respir J*. 1998 May;11(5):1028–34.
 340. Khan S, Trof RJ, Groeneveld ABJ. Transpulmonary dilution-derived extravascular lung water as a measure of lung edema. *Curr Opin Crit Care*. 2007 Jun;13(3):303–7.
 341. Naidu BV, Dronavalli VB, Rajesh PB. Measuring lung water following major lung resection. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2009 May;8(5):503–6.
 342. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008 Sep;295(3):L379–99.
 343. Björck S, Dahlström A, Ahlman H. Treatment of distal colitis with local anaesthetic agents. *Pharmacol Toxicol*. 2002 Apr;90(4):173–80.
 344. Nickel JC, Moldwin R, Lee S, Davis EL, Henry RA, Wyllie MG. Intravesical alkalized lidocaine (PSD597) offers sustained relief from symptoms of interstitial cystitis and painful bladder syndrome. *BJU Int*. 2009 Apr;103(7):910–8.
 345. Mattsson U, Cassuto J, Tarnow P, Jönsson A, Jontell M. Intravenous lidocaine infusion in the treatment of experimental human skin burns - digital colour image analysis of erythema development. *Burns*. 2000 Dec;26(8):710–5.
 346. Walsh GM. Emerging drugs for asthma. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2008 Dec;13(4):643–53.

347. Hattori M, Dohi S, Nozaki M, Niwa M, Shimonaka H. The inhibitory effects of local anesthetics on superoxide generation of neutrophils correlate with their partition coefficients. *Anesth Analg*. 1997 Feb;84(2):405–12.
348. Williams JH Jr, Patel SK, Hatakeyama D, Arian R, Guo K, Hickey TJ, et al. Activated pulmonary vascular neutrophils as early mediators of endotoxin-induced lung inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1993 Feb;8(2):134–44.
349. Barroso-Aranda J, Zweifach BW, Mathison JC, Schmid-Schönbein GW. Neutrophil activation, tumor necrosis factor, and survival after endotoxic and hemorrhagic shock. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995;25 Suppl 2:S23–9.
350. Xu H, Gonzalo JA, St Pierre Y, Williams IR, Kupper TS, Cotran RS, et al. Leukocytosis and resistance to septic shock in intercellular adhesion molecule 1-deficient mice. *J Exp Med*. 1994 Jul 1;180(1):95–109.
351. MacGregor RR, Thorner RE, Wright DM. Lidocaine inhibits granulocyte adherence and prevents granulocyte delivery to inflammatory sites. *Blood*. 1980 Aug;56(2):203–9.
352. Schmidt W, Schmidt H, Bauer H, Gebhard MM, Martin E. Influence of lidocaine on endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo. *Anesthesiology*. 1997 Sep;87(3):617–24.
353. Azuma Y, Ohura K. Immunological modulation by lidocaine-epinephrine and prilocaine-felypressin on the functions related to natural immunity in neutrophils and macrophages. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*. 2004 Mar;4(1):29–36.
354. Azuma Y, Shinohara M, Wang PL, Suese Y, Yasuda H, Ohura K. Comparison of inhibitory effects of local anesthetics on immune functions of neutrophils. *Int J Immunopharmacol*. 2000 Oct;22(10):789–96.
355. Giddon DB, Lindhe J. In vivo quantitation of local anesthetic suppression of leukocyte adherence. *Am J Pathol*. 1972 Aug;68(2):327–38.
356. Griffin JD, Spertini O, Ernst TJ, Belvin MP, Levine HB, Kanakura Y, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and other cytokines regulate surface expression of the leukocyte adhesion molecule-1 on human neutrophils, monocytes, and their precursors. *J Immunol*. 1990 Jul 15;145(2):576–84.
357. Sinclair R, Eriksson AS, Gretzer C, Cassuto J, Thomsen P. Inhibitory effects of amide local anaesthetics on stimulus-induced human leukocyte metabolic activation, LTB₄ release and IL-1 secretion in vitro. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1993 Feb;37(2):159–65.
358. Sasagawa S. Inhibitory effects of local anesthetics on migration, extracellular release of lysosomal enzyme, and superoxide anion production in human polymorphonuclear leukocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 1991;13(4):607–22.
359. Eriksson AS, Sinclair R, Cassuto J, Thomsen P. Influence of lidocaine on leukocyte function in the surgical wound. *Anesthesiology*. 1992 Jul;77(1):74–8.
360. Drucker M, Cardenas E, Arizti P, Valenzuela A, Gamboa A. Experimental studies on the effect of lidocaine on wound healing. *World J Surg*. 1998 Apr;22(4):394–7; discussion 397–8.
361. Rodrigues FV, Hochman B, Wood VT, Simões MJ, Juliano Y, Ferreira LM. Effects of lidocaine with epinephrine or with buffer on wound healing in rat skin. *Wound Repair Regen*. 2011 Apr;19(2):223–8.
362. Volpi M, Sha'afi RI, Epstein PM, Andrenyak DM, Feinstein MB. Local anesthetics, mepacrine, and propranolol are antagonists of calmodulin. *Proc Natl*

Acad Sci USA. 1981 Feb;78(2):795–9.

363. Nicolson GL, Smith JR, Poste G. Effects of local anesthetics on cell morphology and membrane-associated cytoskeletal organization in BALB/3T3 cells. *J Cell Biol.* 1976 Feb;68(2):395–402.

364. De Klaver MJM, Weingart GS, Obrig TG, Rich GF. Local anesthetic-induced protection against lipopolysaccharide-induced injury in endothelial cells: the role of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesth Analg.* 2006 Apr;102(4):1108–13.

365. Fantone JC, Marasco WA, Elgas LJ, Ward PA. Stimulus specificity of prostaglandin inhibition of rabbit polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release and superoxide anion production. *Am J Pathol.* 1984 Apr;115(1):9–16.

366. Doerfler ME, Weiss J, Clark JD, Elsbach P. Bacterial lipopolysaccharide primes human neutrophils for enhanced release of arachidonic acid and causes phosphorylation of an 85-kD cytosolic phospholipase A2. *J Clin Invest.* 1994 Apr;93(4):1583–91.

367. Cederholm I, Briheim G, Rutberg H, Dahlgren C. Effects of five amino-amide local anaesthetic agents on human polymorphonuclear leukocytes measured by chemiluminescence. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1994 Oct;38(7):704–10.

368. Ploppa A, Kiefer R-T, Haverstick DM, Groves DS, Unertl KE, Durieux ME. Local anesthetic effects on human neutrophil priming and activation. *Reg Anesth Pain Med.* 2010 Feb;35(1):45–50.

369. Cullen BF, Haschke RH. Local anesthetic inhibition of phagocytosis and metabolism of human leukocytes. *Anesthesiology.* 1974 Feb;40(2):142–6.

370. Mikawa K, Akamatsu H, Nishina K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, et al. Inhibitory effect of local anaesthetics on reactive oxygen species production by human neutrophils. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1997 Apr;41(4):524–8.

371. Hollmann MW, Gross A, Jelacin N, Durieux ME. Local anesthetic effects on priming and activation of human neutrophils. *Anesthesiology.* 2001 Jul;95(1):113–22.

372. Arakawa K, Takahashi H, Nakagawa S, Ogawa S. The effects of lidocaine on superoxide production and p47 Phox translocation in opsonized zymosan-activated neutrophils. *Anesth Analg.* 2001 Dec;93(6):1501–6, table of contents.

373. Hyvönen PM, Kowolik MJ. Dose-dependent suppression of the neutrophil respiratory burst by lidocaine. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1998 May;42(5):565–9.

374. Celebi H, Bozkirli F, Günaydin B, Bilgihan A. Effect of high-dose lidocaine treatment on superoxide dismutase and malon dialdehyde levels in seven diabetic patients. *Reg Anesth Pain Med.* 2000 Jun;25(3):279–82.

375. Peck SL, Johnston RB Jr, Horwitz LD. Reduced neutrophil superoxide anion release after prolonged infusions of lidocaine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1985 Nov;235(2):418–22.

376. Siminiak T, Wysocki H. The effect of lidocaine on oxygen free radical production by polymorphonuclear neutrophils. *Agents Actions.* 1992;Spec No:C104–5.

377. Goel RK, Tavares IA, Nellgard P, Jonsson A, Cassuto J, Bennett A. Effect of lignocaine on eicosanoid synthesis by pieces of human gastric mucosa. *J Pharm Pharmacol.* 1994 Apr;46(4):319–20.

378. Taniguchi T, Shibata K, Yamamoto K, Mizukoshi Y, Kobayashi T. Effects of lidocaine administration on hemodynamics and cytokine responses to endotoxemia in rabbits. *Crit Care Med.* 2000 Mar;28(3):755–9.

379. Herroeder S, Pecher S, Schonherr ME, Kaulitz G, Hahnenkamp K, Friess H, et al. Systemic Lidocaine Shortens Length of Hospital Stay After Colorectal Surgery. *Ann Surg*. 2007 Aug;246(2):192–200.
380. Cannon JG. Inflammatory Cytokines in Nonpathological States. *News Physiol Sci*. 2000 Dec;15:298–303.
381. Vlahopoulos S, Boldogh I, Casola A, Brasier AR. Nuclear factor-kappaB-dependent induction of interleukin-8 gene expression by tumor necrosis factor alpha: evidence for an antioxidant sensitive activating pathway distinct from nuclear translocation. *Blood*. 1999 Sep 15;94(6):1878–89.
382. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med*. 1993 Oct 15;119(8):771–8.
383. Minghini A, Britt LD, Hill MA. Interleukin-1 and interleukin-6 mediated skeletal muscle arteriolar vasodilation: in vitro versus in vivo studies. *Shock*. 1998 Mar;9(3):210–5.
384. Rubin LJ, Keller RS, Parker JL, Adams HR. Contractile dysfunction of ventricular myocytes isolated from endotoxemic guinea pigs. *Shock*. 1994 Aug;2(2):113–20.
385. Yardeni IZ, Beilin B, Mayburd E, Levinson Y, Bessler H. The Effect of Perioperative Intravenous Lidocaine on Postoperative Pain and Immune Function. *Anesth Analg*. 2009 Nov 1;109(5):1464–9.
386. Kuo CP, Jao SW, Chen KM, Wong CS, Yeh CC, Sheen MJ, et al. Comparison of the effects of thoracic epidural analgesia and i.v. infusion with lidocaine on cytokine response, postoperative pain and bowel function in patients undergoing colonic surgery. *Br J Anaesth*. 2006 Nov 1;97(5):640–6.
387. Lahav M, Levite M, Bassani L, Lang A, Fidler H, Tal R, et al. Lidocaine inhibits secretion of IL-8 and IL-1beta and stimulates secretion of IL-1 receptor antagonist by epithelial cells. *Clin Exp Immunol*. 2002 Feb;127(2):226–33.
388. Lang A, Ben Horin S, Picard O, Fudim E, Amariglio N, Chowers Y. Lidocaine inhibits epithelial chemokine secretion via inhibition of nuclear factor kappa B activation. *Immunobiology*. 2010 Apr;215(4):304–13.
389. Bauldry SA, Wooten RE, Bass DA. Activation of cytosolic phospholipase A2 in permeabilized human neutrophils. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Jan 19;1299(2):223–34.
390. Tan Z, Dohi S, Ohguchi K, Nakashima S, Banno Y, Ono Y, et al. Effects of local anesthetics on phospholipase D activity in differentiated human promyelocytic leukemic HL60 cells. *Biochem Pharmacol*. 1999 Dec 15;58(12):1881–9.
391. Chen J, Dohi S, Tan Z, Banno Y, Nozawa Y. The inhibitory effect of local anesthetics on bradykinin-induced phospholipase D activation in rat pheochromocytoma PC12 cells. *Anesth Analg*. 2002 Jul;95(1):88–97, table of contents.
392. Wang JP, Raung SL, Tsao LT, Hsu MF, Lin CN. Blockade of protein kinase C is involved in the inhibition by cycloheterophyllin of neutrophil superoxide anion generation. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 1997 May;355(5):551–8.
393. Lahat A, Ben-Horin S, Horin SB, Lang A, Fudim E, Picard O, et al. Lidocaine down-regulates nuclear factor-kappaB signalling and inhibits cytokine production and T cell proliferation. *Clin Exp Immunol*. 2008 May;152(2):320–7.
394. Li C-Y, Tsai C-S, Hsu P-C, Chueh S-H, Wong C-S, Ho S-T. Lidocaine attenuates monocyte chemoattractant protein-1 production and chemotaxis in human

- monocytes: possible mechanisms for its effect on inflammation. *Anesth Analg*. 2003 Nov;97(5):1312–6.
395. Hagimoto N, Kuwano K, Miyazaki H, Kunitake R, Fujita M, Kawasaki M, et al. Induction of apoptosis and pulmonary fibrosis in mice in response to ligation of Fas antigen. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1997 Sep;17(3):272–8.
396. Bohlinger I, Leist M, Gantner F, Angermuller S, Tiegs G, Wendel A. DNA fragmentation in mouse organs during endotoxic shock. *Am J Pathol*. 1996 Oct;149(4):1381–93.
397. Haimovitz-Friedman A, Cordon-Cardo C, Bayoumy S, Garzotto M, McLoughlin M, Gallily R, et al. Lipopolysaccharide induces disseminated endothelial apoptosis requiring ceramide generation. *J Exp Med*. 1997 Dec 1;186(11):1831–41.
398. Fujita M, Kuwano K, Kunitake R, Hagimoto N, Miyazaki H, Kaneko Y, et al. Endothelial cell apoptosis in lipopolysaccharide-induced lung injury in mice. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998 Nov;117(3):202–8.
399. Feng Y, Yang Q, Xu J, Qian G, Liu Y. Effects of HMGB1 on PMN apoptosis during LPS-induced acute lung injury. *Exp Mol Pathol*. 2008 Dec;85(3):214–22.
400. Perez-Castro R, Patel S, Garavito-Aguilar ZV, Rosenberg A, Recio-Pinto E, Zhang J, et al. Cytotoxicity of local anesthetics in human neuronal cells. *Anesth Analg*. 2009 Mar;108(3):997–1007.
401. Zhong Z, Qulian G, Yuan Z, Wangyuan Z, Zhihua S. Repeated intrathecal administration of ropivacaine causes neurotoxicity in rats. *Anaesth Intensive Care*. 2009 Nov;37(6):929–36.
402. Werdehausen R, Fazeli S, Braun S, Hermanns H, Essmann F, Hollmann MW, et al. Apoptosis induction by different local anaesthetics in a neuroblastoma cell line. *Br J Anaesth*. 2009 Nov;103(5):711–8.
403. Werdehausen R, Braun S, Essmann F, Schulze-Osthoff K, Walczak H, Lipfert P, et al. Lidocaine induces apoptosis via the mitochondrial pathway independently of death receptor signaling. *Anesthesiology*. 2007 Jul;107(1):136–43.
404. Boselli E, Duflo F, Debon R, Allaouchiche B, Chassard D, Thomas L, et al. The induction of apoptosis by local anesthetics: a comparison between lidocaine and ropivacaine. *Anesth Analg*. 2003 Mar;96(3):755–6, table of contents.
405. Lee HT, Xu H, Siegel CD, Krichevsky IE. Local anesthetics induce human renal cell apoptosis. *Am J Nephrol*. 2003 Jun;23(3):129–39.
406. Lee HT, Krichevsky IE, Xu H, Ota-Setlik A, D'Agati VD, Emala CW. Local anesthetics worsen renal function after ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004 Jan;286(1):F111–9.
407. Borazan M, Karalezli A, Oto S, Akova YA, Karabay G, Kocbiyik A, et al. Induction of apoptosis of rabbit corneal endothelial cells by preservative-free lidocaine hydrochloride 2%, ropivacaine 1%, or levobupivacaine 0.75%. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Apr;35(4):753–8.
408. Farkas B, Kvell K, Czömpöly T, Illés T, Bárdos T. Increased chondrocyte death after steroid and local anesthetic combination. *Clin Orthop Relat Res*. 2010 Nov;468(11):3112–20.
409. Piper SL, Kramer JD, Kim HT, Feeley BT. Effects of Local Anesthetics on Articular Cartilage. *Am J Sports Med* [Internet]. 2011 Apr 22 [cited 2012 Oct 25]; Available from: <http://ajs.sagepub.com/content/early/2011/04/22/0363546511402780>
410. Lirk P, Berger R, Hollmann MW, Fiegl H. Lidocaine time- and dose-

- independently demethylates deoxyribonucleic acid in breast cancer cell lines in vitro. *Br J Anaesth*. 2012 Aug;109(2):200–7.
411. Lei B, Popp S, Capuano-Waters C, Cottrell JE, Kass IS. Lidocaine attenuates apoptosis in the ischemic penumbra and reduces infarct size after transient focal cerebral ischemia in rats. *Neuroscience*. 2004;125(3):691–701.
 412. Kaczmarek DJ, Herzog C, Larmann J, Gillmann H-J, Hildebrand R, Schmitz M, et al. Lidocaine protects from myocardial damage due to ischemia and reperfusion in mice by its antiapoptotic effects. *Anesthesiology*. 2009 May;110(5):1041–9.
 413. Vallance P, Moncada S. Role of endogenous nitric oxide in septic shock. *New Horiz*. 1993 Feb;1(1):77–86.
 414. Kirkebøen KA, Strand OA. The role of nitric oxide in sepsis--an overview. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1999 Mar;43(3):275–88.
 415. Parratt JR. Nitric oxide. A key mediator in sepsis and endotoxaemia? *J Physiol Pharmacol*. 1997 Dec;48(4):493–506.
 416. Shiga M, Nishina K, Mikawa K, Obara H. The effects of lidocaine on nitric oxide production from an activated murine macrophage cell line. *Anesth Analg*. 2001 Jan;92(1):128–33.
 417. Huang Y-H, Tsai P-S, Kai Y-F, Yang C-H, Huang C-J. Lidocaine Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase and Cationic Amino Acid Transporter-2 Transcription in Activated Murine Macrophages May Involve Voltage-Sensitive Na⁺ Channel. *Anesth Analg*. 2006 Jun 1;102(6):1739–44.
 418. Takaishi K, Kitahata H, Kawahito S. Local anesthetics inhibit nitric oxide production and L-arginine uptake in cultured bovine aortic endothelial cells. *Eur J Pharmacol*. 2013 Mar 15;704(1-3):58–63.
 419. Welk BK, Teichman JMH. Dyspareunia response in patients with interstitial cystitis treated with intravesical lidocaine, bicarbonate, and heparin. *Urology*. 2008 Jan;71(1):67–70.
 420. Dawson TE, Jamison J. Intravesical treatments for painful bladder syndrome/ interstitial cystitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(4):CD006113.
 421. Matsuo T, Shida Y, Hayashida Y, Sakai H. [Intravesical therapy of heparin and lidocaine for interstitial cystitis : a case report]. *Hinyokika Kiyo*. 2011 Sep;57(9):513–6.
 422. Asklin B, Cassuto J. Intravesical lidocaine in severe interstitial cystitis. Case report. *Scand J Urol Nephrol*. 1989;23(4):311–2.
 423. Björck S, Dahlström A, Johansson L, Ahlman H. Treatment of the mucosa with local anaesthetics in ulcerative colitis. *Agents and Actions*. 1992 Jul 1;36(3-4):C60–72.
 424. Björck S, Dahlström A, Ahlman H. Topical treatment of ulcerative proctitis with lidocaine. *Scand J Gastroenterol*. 1989 Nov;24(9):1061–72.
 425. Lee E-H, Lee H-M, Chung C-H, Chin J-H, Choi D-K, Chung H-J, et al. Impact of intravenous lidocaine on myocardial injury after off-pump coronary artery surgery. *Br J Anaesth*. 2011 Apr 1;106(4):487–93.
 426. Jin Z-X, Zhang S-L, Wang X-M, Bi S-H, Xin M, Zhou J-J, et al. The myocardial protective effects of a moderate-potassium adenosine-lidocaine cardioplegia in pediatric cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008 Dec;136(6):1450–5.
 427. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001 Feb 17;357(9255):539–45.
 428. Thun MJ, Henley SJ, Gansler T. Inflammation and cancer: an epidemiological perspective. *Novartis Found Symp*. 2004;256:6–21; discussion 22–8, 49–52, 266–

- 9.
429. Forget P, De Kock M. [Could anaesthesia, analgesia and sympathetic modulation affect neoplastic recurrence after surgery? A systematic review centred over the modulation of natural killer cells activity]. *Ann Fr Anesth Reanim*. 2009 Sep;28(9):751–68.
430. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec 19;420(6917):860–7.
431. Rakoff-Nahoum S. Why Cancer and Inflammation? *Yale J Biol Med*. 2006 Dec;79(3-4):123–30.
432. Sarkar FH, Adsule S, Li Y, Padhye S. Back to the future: COX-2 inhibitors for chemoprevention and cancer therapy. *Mini Rev Med Chem*. 2007 Jun;7(6):599–608.
433. Xu X-C. COX-2 inhibitors in cancer treatment and prevention, a recent development. *Anticancer Drugs*. 2002 Feb;13(2):127–37.
434. Rao CV, Reddy BS. NSAIDs and chemoprevention. *Curr Cancer Drug Targets*. 2004 Feb;4(1):29–42.
435. Bar-Yosef S, Melamed R, Page GG, Shakhar G, Shakhar K, Ben-Eliyahu S. Attenuation of the tumor-promoting effect of surgery by spinal blockade in rats. *Anesthesiology*. 2001 Jun;94(6):1066–73.
436. Exadaktylos AK, Buggy DJ, Moriarty DC, Mascha E, Sessler DI. Can anesthetic technique for primary breast cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Anesthesiology*. 2006 Oct;105(4):660–4.
437. Sessler DI, Ben-Eliyahu S, Mascha EJ, Parat M-O, Buggy DJ. Can regional analgesia reduce the risk of recurrence after breast cancer? Methodology of a multicenter randomized trial. *Contemp Clin Trials*. 2008 Jul;29(4):517–26.
438. Biki B, Mascha E, Moriarty DC, Fitzpatrick JM, Sessler DI, Buggy DJ. Anesthetic technique for radical prostatectomy surgery affects cancer recurrence: a retrospective analysis. *Anesthesiology*. 2008 Aug;109(2):180–7.
439. Wuethrich PY, Hsu Schmitz S-F, Kessler TM, Thalmann GN, Studer UE, Stueber F, et al. Potential influence of the anesthetic technique used during open radical prostatectomy on prostate cancer-related outcome: a retrospective study. *Anesthesiology*. 2010 Sep;113(3):570–6.
440. Tsui BCH, Rashid S, Schopflocher D, Murtha A, Broemling S, Pillay J, et al. Epidural anesthesia and cancer recurrence rates after radical prostatectomy. *Can J Anaesth*. 2010 Feb;57(2):107–12.
441. McCarthy GC, Megalla SA, Habib AS. Impact of intravenous lidocaine infusion on postoperative analgesia and recovery from surgery: a systematic review of randomized controlled trials. *Drugs*. 2010 Jun 18;70(9):1149–63.
442. Jönsson A, Mattsson U, Tarnow P, Nellgård P, Cassuto J. Topical local anaesthetics (EMLA) inhibit burn-induced plasma extravasation as measured by digital image colour analysis. *Burns*. 1998 Jun;24(4):313–8.
443. Jönsson A, Brofeldt BT, Nellgård P, Tarnow P, Cassuto J. Local anesthetics improve dermal perfusion after burn injury. *J Burn Care Rehabil*. 1998 Feb;19(1 Pt 1):50–6.
444. Cassuto J, Nellgård P, Stage L, Jönsson A. Amide local anesthetics reduce albumin extravasation in burn injuries. *Anesthesiology*. 1990 Feb;72(2):302–7.
445. Fletcher JR, Ramwell PW. E. coli endotoxin shock in the dog; treatment with lidocaine or indomethacin. *Br J Pharmacol*. 1978 Oct;64(2):185–91.
446. Fletcher JR, Ramwell PW. Lidocaine or indomethacin improves survival in

- baboon endotoxin shock. *J Surg Res.* 1978 Mar;24(3):154–60.
447. Fletcher JR, Casey LC, Ramwell PC. The protective effect of lidocaine on arachidonate metabolism in septic shock. *Prog Lipid Res.* 1981;20:869–73.
448. Cook VL, Jones Shults J, McDowell M, Campbell NB, Davis JL, Blikslager AT. Attenuation of ischaemic injury in the equine jejunum by administration of systemic lidocaine. *Equine Vet J.* 2008 Jun;40(4):353–7.
449. Rimbäck G, Cassuto J, Wallin G, Westlander G. Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiology.* 1988 Dec;69(6):881–6.
450. Nellgård P, Jönsson A, Bojö L, Tarnow P, Cassuto J. Small-bowel obstruction and the effects of lidocaine, atropine and hexamethonium on inflammation and fluid losses. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996 Mar;40(3):287–92.
451. Mikawa K, Maekawa N, Nishina K, Takao Y, Yaku H, Obara H. Effect of lidocaine pretreatment on endotoxin-induced lung injury in rabbits. *Anesthesiology.* 1994 Sep;81(3):689–99.
452. Nishina K, Mikawa K, Maekawa N, Takao Y, Obara H. Does early posttreatment with lidocaine attenuate endotoxin-induced acute injury in rabbits? *Anesthesiology.* 1995 Jul;83(1):169–77.
453. Nishina K, Mikawa K, Takao Y, Shiga M, Maekawa N, Obara H. Intravenous lidocaine attenuates acute lung injury induced by hydrochloric acid aspiration in rabbits. *Anesthesiology.* 1998 May;88(5):1300–9.
454. Blumenthal S, Borgeat A, Pasch T, Reyes L, Booy C, Lambert M, et al. Ropivacaine decreases inflammation in experimental endotoxin-induced lung injury. *Anesthesiology.* 2006 May;104(5):961–9.
455. Takao Y, Mikawa K, Nishina K, Maekawa N, Obara H. Lidocaine attenuates hyperoxic lung injury in rabbits. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996 Mar;40(3):318–25.
456. Kiyonari Y, Nishina K, Mikawa K, Maekawa N, Obara H. Lidocaine attenuates acute lung injury induced by a combination of phospholipase A2 and trypsin. *Crit Care Med.* 2000 Feb;28(2):484–9.
457. Stelzner TJ, Welsh CH, Berger E, McCullough RG, Morris K, Repine JE, et al. Antiarrhythmic agents diminish thiourea-induced pulmonary vascular protein leak in rats. *J Appl Physiol.* 1987 Nov;63(5):1877–83.
458. Konrad CJ, Schuepfer GK, Neuburger M, Schley M, Schmelz M, Schmeck J. Reduction of pulmonary edema by short-acting local anesthetics. *Reg Anesth Pain Med.* 2006 Jun;31(3):254–9.
459. Schley MT, Casutt M, Haberthür C, Dusch M, Rukwied R, Schmelz M, et al. Long-acting local anesthetics attenuate FMLP-induced acute lung injury in rats. *Anesth Analg.* 2009 Sep;109(3):880–5.
460. Das KC, Misra HP. Prevention of reperfusion lung injury by lidocaine in isolated rat lung ventilated with higher oxygen levels. *J Postgrad Med.* 2003 Mar;49(1):17–20.
461. Das KC, Misra HP. Amelioration of postischemic reperfusion injury by antiarrhythmic drugs in isolated perfused rat lung. *Environ Health Perspect.* 1994 Dec;102 Suppl 10:117–21.
462. Schmid RA, Yamashita M, Ando K, Tanaka Y, Cooper JD, Patterson GA. Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann Thorac Surg.* 1996 Mar;61(3):949–55.
463. Sadowski ZP, Alexander JH, Skrabucha B, Dydzyszynski A, Kuch J, Nartowicz E, et al. Multicenter randomized trial and a systematic overview of lidocaine in acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 1999 May;137(5):792–8.

464. Pharand C, Kluger J, O'Rangers E, Ujhelyi M, Fisher J, Chow M. Lidocaine prophylaxis for fatal ventricular arrhythmias after acute myocardial infarction. *Clin Pharmacol Ther.* 1995 Apr;57(4):471–8.
465. Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, Bates ER, Green LA, Hand M, et al. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction—Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circulation.* 2004 Aug 3;110(5):588–636.
466. Wyman MG, Wyman RM, Cannom DS, Criley JM. Prevention of primary ventricular fibrillation in acute myocardial infarction with prophylactic lidocaine. *Am J Cardiol.* 2004 Sep 1;94(5):545–51.
467. Groban L. Central nervous system and cardiac effects from long-acting amide local anesthetic toxicity in the intact animal model. *Reg Anesth Pain Med.* 2003 Feb;28(1):3–11.
468. Groban L, Deal DD, Vernon JC, James RL, Butterworth J. Cardiac resuscitation after incremental overdosage with lidocaine, bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine in anesthetized dogs. *Anesth Analg.* 2001 Jan;92(1):37–43.
469. Guinet P, Estebe J-P, Ratajczak-Enselme M, Bansard J-Y, Chevanne F, Bec D, et al. Electrocardiographic and hemodynamic effects of intravenous infusion of bupivacaine, ropivacaine, levobupivacaine, and lidocaine in anesthetized ewes. *Reg Anesth Pain Med.* 2009 Feb;34(1):17–23.
470. Howard JJ, Mohsenifar Z, Simons SM. Adult respiratory distress syndrome following administration of lidocaine. *Chest.* 1982 May;81(5):644–5.
471. Woelke BJ, Tucker RA. ARDS after local lidocaine administration. *Chest.* 1983 Jun;83(6):933–4.
472. Promisloff RA, DuPont DC. Death from ARDS and cardiovascular collapse following lidocaine administration. *Chest.* 1983 Mar;83(3):585.
473. Sakuragi T, Ishino H, Dan K. Bactericidal activity of clinically used local anesthetics on *Staphylococcus aureus*. *Reg Anesth.* 1996 Jun;21(3):239–42.
474. Johnson SM, Saint John BE, Dine AP. Local anesthetics as antimicrobial agents: a review. *Surg Infect (Larchmt).* 2008 Apr;9(2):205–13.
475. Lee JS, Hayanga AJ, Kubus JJ, Makepeace H, Hutton M, Jr DAC, et al. Local Anesthesia: A Strategy for Reducing Surgical Site Infections? *World J Surg.* 2011 Dec 1;35(12):2596–602.
476. Chandan SS, Faoagali J, Wainwright CE. Sensitivity of respiratory bacteria to lignocaine. *Pathology.* 2005 Aug;37(4):305–7.
477. Rutten AJ, Nancarrow C, Mather LE, Ilsley AH, Runciman WB, Upton RN. Hemodynamic and central nervous system effects of intravenous bolus doses of lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine in sheep. *Anesth Analg.* 1989 Sep;69(3):291–9.
478. Copeland SE, Ladd LA, Gu X-Q, Mather LE. The effects of general anesthesia on the central nervous and cardiovascular system toxicity of local anesthetics. *Anesth Analg.* 2008 May;106(5):1429–39, table of contents.
479. García X, Mateu L, Maynar J, Mercadal J, Ochagavía A, Ferrandiz A. Estimación del gasto cardíaco. Utilidad en la práctica clínica. Monitorización disponible invasiva y no invasiva. *Medicina Intensiva.* 2011 Dec;35(9):552–61.
480. Peterson BT. Permeability: theory vs. practice in lung research. *Am J*

Physiol. 1992 Mar;262(3 Pt 1):L243–56.

481. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987 Apr;162(1):156–9.

482. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods.* 2001 Dec;25(4):402–8.

483. Cui W, Li Y, Li S, Wang R, Li J. Systemic administration of lidocaine reduces morphine requirements and postoperative pain of patients undergoing thoracic surgery after propofol-remifentanyl-based anaesthesia. *Eur J Anaesthesiol.* 2010 Jan;27(1):41–6.

484. Garutti I, Quintana B, Olmedilla L, Cruz A, Barranco M, Garcia de Lucas E. Arterial oxygenation during one-lung ventilation: combined versus general anesthesia. *Anesth Analg.* 1999 Mar;88(3):494–9.

485. Von Dossow V, Welte M, Zaune U, Martin E, Walter M, Rückert J, et al. Thoracic epidural anesthesia combined with general anesthesia: the preferred anesthetic technique for thoracic surgery. *Anesth Analg.* 2001 Apr;92(4):848–54.

486. LeTourneau JL, Pinney J, Phillips CR. Extravascular lung water predicts progression to acute lung injury in patients with increased risk. *Crit Care Med.* 2012 Mar;40(3):847–54.

487. Cohen E, Eisenkraft JB, Thys DM, Kirschner PA, Kaplan JA. Oxygenation and hemodynamic changes during one-lung ventilation: effects of CPAP10, PEEP10, and CPAP10/PEEP10. *J Cardiothorac Anesth.* 1988 Feb;2(1):34–40.

488. Schietroma M, Risetti A, Carlei F, Maggi G, Cianca G, De Santis C, et al. [Response of interleukin-6 in patients undergoing a laparoscopic or laparotomic cholecystectomy]. *Minerva Chir.* 1998 May;53(5):359–62.

489. Yamauchi H, Kobayashi E, Yoshida T, Kiyozaki H, Hozumi Y, Kohiyama R, et al. CHANGES IN IMMUNE-ENDOCRINE RESPONSE AFTER SURGERY. *Cytokine.* 1998 Jul;10(7):549–54.

490. Papavlassopoulos M, Stamme C, Thon L, Adam D, Hillemann D, Seydel U, et al. MaxiK blockade selectively inhibits the lipopolysaccharide-induced I kappa B-alpha /NF-kappa B signaling pathway in macrophages. *J Immunol.* 2006 Sep 15;177(6):4086–93.

491. Kindler CH, Paul M, Zou H, Liu C, Winegar BD, Gray AT, et al. Amide local anesthetics potently inhibit the human tandem pore domain background K⁺ channel TASK-2 (KCNK5). *J Pharmacol Exp Ther.* 2003 Jul;306(1):84–92.

492. Su D, Gu Y, Wang Z, Wang X. Lidocaine attenuates proinflammatory cytokine production induced by extracellular adenosine triphosphate in cultured rat microglia. *Anesth Analg.* 2010 Sep;111(3):768–74.

493. Rollins BJ, Walz A, Baggiolini M. Recombinant human MCP-1/JE induces chemotaxis, calcium flux, and the respiratory burst in human monocytes. *Blood.* 1991 Aug 15;78(4):1112–6.

494. Yoshimura T, Leonard EJ. Human monocyte chemoattractant protein-1: structure and function. *Cytokines.* 1992;4:131–52.

495. Sozzani S, Locati M, Zhou D, Rieppi M, Luini W, Lamorte G, et al. Receptors, signal transduction, and spectrum of action of monocyte chemotactic protein-1 and related chemokines. *J Leukoc Biol.* 1995 May;57(5):788–94.

496. Ng CSH, Whelan RL, Lacy AM, Yim APC. Is minimal access surgery for cancer associated with immunologic benefits? *World J Surg.* 2005 Aug;29(8):975–81.

497. Ng CSH, Wan S, Hui CWC, Wan IYP, Lee TW, Underwood MJ, et al. Video-assisted thoracic surgery lobectomy for lung cancer is associated with less immunochemokine disturbances than thoracotomy. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007 Jan;31(1):83–7.
498. Huang S-C, Sheu B-C, Chang W-C, Cheng C-Y, Wang P-H, Lin S. Extracellular matrix proteases - cytokine regulation role in cancer and pregnancy. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2009;14:1571–88.
499. Nakamoto T, Yamagata T, Sakai R, Ogawa S, Honda H, Ueno H, et al. CIZ, a Zinc Finger Protein That Interacts with p130cas and Activates the Expression of Matrix Metalloproteinases. *Mol Cell Biol*. 2000 Mar;20(5):1649–58.
500. Iizasa T, Fujisawa T, Suzuki M, Motohashi S, Yasufuku K, Yasukawa T, et al. Elevated levels of circulating plasma matrix metalloproteinase 9 in non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res*. 1999 Jan;5(1):149–53.
501. Soccia PM, Gasche Y, Miniati DN, Hoyt G, Berry GJ, Doyle RL, et al. Matrix metalloproteinase inhibition decreases ischemia-reperfusion injury after lung transplantation. *Am J Transplant*. 2004 Jan;4(1):41–50.
502. Yano M, Omoto Y, Yamakawa Y, Nakashima Y, Kiriya M, Saito Y, et al. Increased matrix metalloproteinase 9 activity and mRNA expression in lung ischemia-reperfusion injury. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2001 Jun;20(6):679–86.
503. Cheung PY, Sawicki G, Wozniak M, Wang W, Radomski MW, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart. *Circulation*. 2000 Apr 18;101(15):1833–9.
504. Gasche Y, Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Copin JC, Kawase M, Massengale J, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999 Sep;19(9):1020–8.
505. Deegan CA, Murray D, Doran P, Moriarty DC, Sessler DI, Mascha E, et al. Anesthetic technique and the cytokine and matrix metalloproteinase response to primary breast cancer surgery. *Reg Anesth Pain Med*. 2010 Dec;35(6):490–5.
506. Haitsma JJ, Uhlig S, Göggel R, Verbrugge SJ, Lachmann U, Lachmann B. Ventilator-induced lung injury leads to loss of alveolar and systemic compartmentalization of tumor necrosis factor- α . *Intensive Care Med*. 2000 Oct;26(10):1515–22.
507. Tutor JD, Mason CM, Dobard E, Beckerman RC, Summer WR, Nelson S. Loss of compartmentalization of alveolar tumor necrosis factor after lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 May 1;149(5):1107–11.
508. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jan;157(1):294–323.
509. Naidu BV, Woolley SM, Farivar AS, Thomas R, Fraga CH, Goss CH, et al. Early tumor necrosis factor- α release from the pulmonary macrophage in lung ischemia-reperfusion injury. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2004 May 1;127(5):1502–8.
510. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS. Mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Jul;160(1):109–16.
511. Whitehead TC, Zhang H, Mullen B, Slutsky AS. Effect of mechanical ventilation on cytokine response to intratracheal lipopolysaccharide. *Anesthesiology*. 2004 Jul;101(1):52–8.

512. Vaneker M, Halbertsma FJ, van Egmond J, Netea MG, Dijkman HB, Snijdelaar DG, et al. Mechanical ventilation in healthy mice induces reversible pulmonary and systemic cytokine elevation with preserved alveolar integrity: an in vivo model using clinical relevant ventilation settings. *Anesthesiology*. 2007 Sep;107(3):419–26.
513. Gearing AJ, Beckett P, Christodoulou M, Churchill M, Clements J, Davidson AH, et al. Processing of tumour necrosis factor-alpha precursor by metalloproteinases. *Nature*. 1994 Aug 18;370(6490):555–7.
514. D'Angio CT, Sinkin RA, LoMonaco MB, Finkelstein JN. Interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 mRNAs in oxygen-injured rabbit lung. *Am J Physiol*. 1995 May;268(5 Pt 1):L826–31.
515. Fitzgerald DC, Meade KG, McEvoy AN, Lillis L, Murphy EP, MacHugh DE, et al. Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases nuclear factor kappaB (NFkappaB) activity in and interleukin-8 (IL-8) release from bovine mammary epithelial cells. *Vet Immunol Immunopathol*. 2007 Mar 15;116(1-2):59–68.
516. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Nov 1;301(5):H1723–41.
517. Renard P, Zachary MD, Bougelet C, Mirault ME, Haegeman G, Remacle J, et al. Effects of antioxidant enzyme modulations on interleukin-1-induced nuclear factor kappa B activation. *Biochem Pharmacol*. 1997 Jan 24;53(2):149–60.
518. Ginn-Pease ME, Whisler RL. Optimal NF kappa B mediated transcriptional responses in Jurkat T cells exposed to oxidative stress are dependent on intracellular glutathione and costimulatory signals. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Sep 24;226(3):695–702.
519. Janssen-Heininger YM, Macara I, Mossman BT. Cooperativity between oxidants and tumor necrosis factor in the activation of nuclear factor (NF)-kappaB: requirement of Ras/mitogen-activated protein kinases in the activation of NF-kappaB by oxidants. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999 May;20(5):942–52.
520. Mantovani A, Bussolino F, Introna M. Cytokine regulation of endothelial cell function: from molecular level to the bedside. *Immunol Today*. 1997 May;18(5):231–40.
521. Brigelius-Flohé R, Friedrichs B, Maurer S, Schultz M, Streicher R. Interleukin-1-induced nuclear factor kappa B activation is inhibited by overexpression of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in a human endothelial cell line. *Biochem J*. 1997 Nov 15;328 (Pt 1):199–203.
522. Lan W, Harmon DC, Wang JH, Shorten GD, Redmond PH. Activated endothelial interleukin-1beta, -6, and -8 concentrations and intercellular adhesion molecule-1 expression are attenuated by lidocaine. *Anesth Analg*. 2005 Feb;100(2):409–12.
523. Oka M, Hirazawa K, Yamamoto K, Iizuka N, Hazama S, Suzuki T, et al. Induction of Fas-mediated apoptosis on circulating lymphocytes by surgical stress. *Ann Surg*. 1996 Apr;223(4):434–40.
524. Delogu G, Moretti S, Antonucci A, Marcellini S, Masciangelo R, Famularo G, et al. Apoptosis and surgical trauma: dysregulated expression of death and survival factors on peripheral lymphocytes. *Arch Surg*. 2000 Oct;135(10):1141–7.
525. McDonald RJ, Usachenko J. Neutrophils injure bronchial epithelium after ozone exposure. *Inflammation*. 1999 Feb;23(1):63–73.
526. Aoshiba K, Rennard SI, Spurzem JR. Cell-matrix and cell-cell interactions

- modulate apoptosis of bronchial epithelial cells. *Am J Physiol.* 1997 Jan;272(1 Pt 1):L28–37.
527. Messmer UK, Briner VA, Pfeilschifter J. Basic fibroblast growth factor selectively enhances TNF- α -induced apoptotic cell death in glomerular endothelial cells: effects on apoptotic signaling pathways. *J Am Soc Nephrol.* 2000 Dec;11(12):2199–211.
528. Pober JS. Activation and injury of endothelial cells by cytokines. *Pathol Biol.* 1998 Mar;46(3):159–63.
529. Vernooy JHJ, Dentener MA, van Suylen RJ, Buurman WA, Wouters EFM. Intratracheal Instillation of Lipopolysaccharide in Mice Induces Apoptosis in Bronchial Epithelial Cells: No Role for Tumor Necrosis Factor- α and Infiltrating Neutrophils. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.* 2001 May;24(5):569–76.
530. Abbate A, Salloum FN, Vecile E, Das A, Hoke NN, Straino S, et al. Anakinra, a Recombinant Human Interleukin-1 Receptor Antagonist, Inhibits Apoptosis in Experimental Acute Myocardial Infarction. *Circulation.* 2008 May 20;117(20):2670–83.
531. Sorolla A, Yeramian A, Valls J, Dolcet X, Bergadà L, Llombart-Cussac A, et al. Blockade of NF κ B activity by Sunitinib increases cell death in Bortezomib-treated endometrial carcinoma cells. *Mol Oncol.* 2012 Oct;6(5):530–41.
532. Pinton P, Giorgi C, Siviero R, Zecchini E, Rizzuto R. Calcium and apoptosis: ER-mitochondria Ca²⁺ transfer in the control of apoptosis. *Oncogene.* 2008 Oct 27;27(50):6407–18.
533. Sugiyama K, Muteki T. Local anesthetics depress the calcium current of rat sensory neurons in culture. *Anesthesiology.* 1994 Jun;80(6):1369–78.
534. Josephson IR. Lidocaine blocks Na, Ca and K currents of chick ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1988 Jul;20(7):593–604.
535. Butwell NB, Ramasamy R, Lazar I, Sherry AD, Malloy CR. Effect of lidocaine on contracture, intracellular sodium, and pH in ischemic rat hearts. *Am J Physiol.* 1993 Jun;264(6 Pt 2):H1884–9.
536. Das KC, Misra HP. Lidocaine: a hydroxyl radical scavenger and singlet oxygen quencher. *Mol Cell Biochem.* 1992 Oct 7;115(2):179–85.
537. Grishko V, Xu M, Wilson G, Pearsall AW 4th. Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human chondrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine. *J Bone Joint Surg Am.* 2010 Mar;92(3):609–18.
538. Takenaka K, Nishimura Y, Nishiuma T, Sakashita A, Yamashita T, Kobayashi K, et al. Ventilator-induced lung injury is reduced in transgenic mice that overexpress endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006 Jun;290(6):L1078–86.
539. Choi W-I, Quinn DA, Park KM, Moufarrej RK, Jafari B, Syrkina O, et al. Systemic Microvascular Leak in an In Vivo Rat Model of Ventilator-induced Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Jun 15;167(12):1627–32.
540. Sedoris KC, Gozal E, Ovechkin AV, Theile AR, Roberts AM. Interplay of endothelial and inducible nitric oxide synthases modulates the vascular response to ischaemia-reperfusion in the rabbit lung. *Acta Physiol (Oxf).* 2012 Mar;204(3):331–43.
541. Yeh DYW, Feng NH, Chen CF, Lin HI, Wang D. Inducible nitric oxide synthase expressions in different lung injury models and the protective effect of aminoguanidine. *Transplant Proc.* 2008 Sep;40(7):2178–81.

542. Lee RP, Wang D, Kao SJ, Chen HI. The lung is the major site that produces nitric oxide to induce acute pulmonary oedema in endotoxin shock. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001 Apr;28(4):315–20.
543. Senthil M, Watkins A, Barlos D, Xu D-Z, Lu Q, Abungu B, et al. Intravenous injection of trauma-hemorrhagic shock mesenteric lymph causes lung injury that is dependent upon activation of the inducible nitric oxide synthase pathway. *Ann Surg*. 2007 Nov;246(5):822–30.
544. Wang D, Wei J, Hsu K, Jau J, Lieu MW, Chao TJ, et al. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on systemic hypotension, cytokines and inducible nitric oxide synthase expression and lung injury following endotoxin administration in rats. *J Biomed Sci*. 1999 Jan;6(1):28–35.
545. Liu HW, Anand A, Bloch K, Christiani D, Kradin R. Expression of inducible nitric oxide synthase by macrophages in rat lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Jul;156(1):223–8.
546. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol*. 1993 Aug;54(2):171–8.
547. Toba H, Nakagawa Y, Miki S, Shimizu T, Yoshimura A, Inoue R, et al. Calcium channel blockades exhibit anti-inflammatory and antioxidative effects by augmentation of endothelial nitric oxide synthase and the inhibition of angiotensin converting enzyme in the N(G)-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertensive rat aorta: vasoprotective effects beyond the blood pressure-lowering effects of amlodipine and manidipine. *Hypertens Res*. 2005 Aug;28(8):689–700.
548. Ding Y, Vaziri ND. Calcium channel blockade enhances nitric oxide synthase expression by cultured endothelial cells. *Hypertension*. 1998 Oct;32(4):718–23.
549. Kai T, Nishimura J, Kobayashi S, Takahashi S, Yoshitake J, Kanaide H. Effects of lidocaine on intracellular Ca²⁺ and tension in airway smooth muscle. *Anesthesiology*. 1993 May;78(5):954–65.
550. Kaminski A, Pohl CB, Sponholz C, Ma N, Stamm C, Vollmar B, et al. Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase inhibits pulmonary leukocyte migration following lung ischemia-reperfusion in mice. *Am J Pathol*. 2004 Jun;164(6):2241–9.
551. De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*. 1995 Jul;96(1):60–8.
552. Okayasu T, Tomizawa A, Suzuki K, Manaka K, Hattori Y. PPAR α activators upregulate eNOS activity and inhibit cytokine-induced NF- κ B activation through AMP-activated protein kinase activation. *Life Sci*. 2008 Apr 9;82(15-16):884–91.
553. Raveendran M, Wang J, Senthil D, Wang J, Utama B, Shen Y, et al. Endogenous nitric oxide activation protects against cigarette smoking induced apoptosis in endothelial cells. *FEBS Lett*. 2005 Jan 31;579(3):733–40.
554. Shen B, Gao L, Hsu Y-T, Bledsoe G, Hagiwara M, Chao L, et al. Kallistatin attenuates endothelial apoptosis through inhibition of oxidative stress and activation of Akt-eNOS signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010 Nov;299(5):H1419–27.